

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN
DER CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON

HEINRICH WIELAND

ADOLF WINDAUS · RICHARD KUHN

BAND 559

MIT 30 FIGUREN IM TEXT

1 9 4 8

VERLAG CHEMIE · GMBH · WEINHEIM/BERGSTR. · BERLIN



P. 105/48/I

P. 312 '59

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten. Copyright 1948 by
Verlag Chemie, GmbH., Weinheim/Bergstr. und Berlin (Lizenz US-W-1113
Eduard Kreuzhage) Printed in Germany. Druck: G. Braun, GmbH., Karlsruhe i. B.

Inhalt des 559. Bandes

Clemens Schöpf, Alfred Komzak, Franz Braun und Ernst Jacobi, Über die Polymeren des Δ^1 -Piperideins	1
Günther Endres, Fritz Hammer und Ellen Rohr, Zur Kenntnis der bakteri- tiziden Wirkung II. Über die Einwirkung von Alkylhalogeniden auf Bak- teriensporen	42
Leopold Horner und Heinz Pohl, Beitrag zum Mechanismus der Polymeri- sation von Vinylverbindungen mit Diacylperoxyden	48
Hans Fischer† und Fritz Gerner, Teilsynthese von Meso-methylphäo- phorbid a und von 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a. Über Chlor- meso-chlorine	77
Oskar Süss, Über die Anlagerung von Schwefelverbindungen an die β , β -Di- methylacrylsäure. — Synthesen der β , β -Dimethyl- α -aminopropionsäure, dl-Penicillamin	92
Rolf Huisgen, Beiträge und Deutungsversuche zur Reaktionsweise aromati- scher Bicyclen	101
Feodor Lynen und Hans Peter Höffmann-Walbeek, Enzyme aus Schim- melpilzen. I. Über einige Gärungsfermente aus <i>Penicillium notatum</i> . .	153
Robert Purmann und Fritz Eulitz, Zur Kenntnis des Erythropterins. Über die Flügelpigmente der Schmetterlinge XVI	169
Rolf Huisgen, Weitere Synthesen in der Reihe des 5,6 (N)-Pyrrochinolins. Über Strychnos-Alkaloide XXXI	174
Heinrich Wieland, Rolf Huisgen und Robert Bubenik, Strychnin und Vomicin. Über Strychnos-Alkaloide XXXII	191
Jakob Freimann und Wilhelm Franke, Zur Kenntnis der sog. Glucose- oxydase IV	199
Wilhelm Franke, Joseph Mönch, Dora Kibat und Annemarie Hamm, Zur Autoxydation der ungesättigten Fettsäuren V. Die Wirkung der Soja- Lipoxydase	221

Alphabetisches Autorenregister

- Braun, Franz, siehe Clemens Schöpf, Alfred Komzak und Ernst Jacobi.
- Bubenik, Robert, siehe Heinrich Wieland und Rolf Huisgen.
- Endres, Günther, Fritz Hammer und Ellen Rohr, 42.
- Eulitz, Fritz, siehe Robert Purrmann.
- Fischer†, Hans, und Fritz Gerner, 77.
- Franke, Wilhelm, siehe Jakob Freimann.
- Franke, Wilhelm, Joseph Mönch, Dora Kibat und Annemarie Hamm, 221.
- Freimann, Jakob und Wilhelm Franke, 199.
- Gerner, Fritz, siehe Hans Fischer†.
- Hamm, Annemarie, siehe Wilhelm Franke, Joseph Mönch und Dora Kibat.
- Hammer, Fritz, siehe Günther Endres und Ellen Rohr.
- Hoffmann-Walbeck, Hans Peter, siehe Feodor Lynen.
- Horner, Leopold und Heinz Pohl, 48.
- Huisgen, Rolf, 101, 174.
- Huisgen, Rolf, siehe Heinrich Wieland und Robert Bubenik.
- Jacobi, Ernst, siehe Clemens Schöpf, Alfred Komzak und Franz Braun.
- Kibat, Dora, siehe Wilhelm Franke, Joseph Mönch und Annemarie Hamm.
- Komzak, Alfred, siehe Clemens Schöpf, Franz Braun und Ernst Jacobi.
- Lynen, Feodor und Hans Peter Hoffmann-Walbeck, 153.
- Mönch, Joseph, siehe Wilhelm Franke, Dora Kibat und Annemarie Hamm.
- Pohl, Heinz, siehe Leopold Horner.
- Purrmann, Robert und Fritz Eulitz, 169.
- Rohr, Ellen, siehe Günther Endres und Fritz Hammer.
- Süs, Oskar, 92.
- Schöpf, Clemens, Alfred Komzak, Franz Braun und Ernst Jacobi, 1.
- Wieland, Heinrich, Rolf Huisgen und Robert Bubenik, 191.

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN
DER CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON
HEINRICH WIELAND
ADOLF WINDAUS · RICHARD KUHN

BAND 559 · HEFT 1

VERLAG CHEMIE GMBH · WEINHEIM/BERGSTR. BERLIN

Liebigs Annalen der Chemie Weinheim/Bergstr. 1948 · Band 559 · Heft 1 · Seiten 1—76

Inhalt

Clemens Schöpf, Alfred Komzak, Franz Braun und Ernst Jacobi, Über die Polymeren des Δ^1 -Piperideins	1
Günther Endres, Fritz Hammer und Ellen Rohr, Zur Kenntnis der bakteriziden Wirkung II. Über die Einwirkung von Alkylhalogeniden auf Bakteriensporen	42
Leopold Horner und Heinz Pohl, Beitrag zum Mechanismus der Polymerisation von Vinylverbindungen mit Diacyperoxyden (Mit 3 Figuren im Text)	48

Mitarbeiter dieses Heftes: Prof. Dr. Günther Endres, geb. 21. 7. 05 Mannheim;
Doz. Dr. Leopold Horner, geb. 24. 8. 1911 Kehl (Rhein); Prof. Dr. Clemens Schöpf, geb.
12. 8. 1899 Gersfeld (Rhön).

Für die Herren Mitarbeiter zur Beachtung

Eine wissenschaftliche Zeitschrift kann bei gleichen Herstellungskosten ihren Lesern um so mehr bringen, je knapper die einzelnen Beiträge in der Abfassung gehalten sind. Kürze der Darstellung ist dem Verständnis förderlicher als ungehemmte Weitschweifigkeit. Auf lange historische Einleitungen, wiederholte Beschreibung schon geschilderter Operationen, auf die liebevolle Charakterisierung an sich nebensächlicher Substanzen aus parallelen Reihen sollte verzichtet werden. Hier ist gedrängte Zusammenfassung im Lapidarstil am Platze.

Die Redaktion behält sich vor, Manuskripte, die den angedeuteten Grundsätzen entgegenlaufen, dem Autor zur Kürzung zurückzusenden.

Abhandlungen, deren Inhalt, wenn auch nur teilweise, schon an anderer Stelle veröffentlicht worden ist oder veröffentlicht werden soll, werden nicht aufgenommen.

Es wird besonders gebeten, die Korrekturen rasch zu erledigen. Nur dann ist das schnelle Erscheinen der Abhandlungen gewährleistet. Verzögerte Korrekturen führen zur Zurückstellung des betr. Beitrags.

Zusammengesetzte Namen sollen der Übersichtlichkeit wegen schon im Manuskript unter Anwendung von Trennungsstrichen wiedergegeben werden, z. B. Methyl-naphthyl-keton, nicht „Methylnaphthylketon“.

Formeln, die wiederkehren, werden zweckmäßig mit römischen Ziffern numeriert, die einen einfachen Hinweis gestatten.

Die Wiedergabe der Analysen ist von Band 430 an in der Schreibweise festgelegt. Wenn für dieselbe Substanz mehrere Analysen gleicher Art gebracht werden, empfiehlt sich die Anordnung gemäß folgendem Beispiel: 0,1270, 0,1404, 0,1176 g Subst.: 0,2854, 0,3062, 0,2459 g Co_2 , 0,0903, 0,1244, 0,0990 g H_2O .

Zitate von Zeitschriften werden nach dem jetzt allgemein eingeführten Brauch abgekürzt.

Die Redaktion

Liebigs Annalen erscheinen in Bänden zu je drei Heften. Die Redaktion besorgt Prof. Heinrich Wieland, (13b) Starnberg Obb., Schießstättstraße 12.

50 Sonderabzüge werden den Verfassern umsonst geliefert; eine größere Zahl kann zur Zeit wegen Papiermangels nur in Ausnahmefällen geliefert werden.

Abonnementspreis je Band 15,— RM. zuzügl. Versandkosten.

Copyright 1947 by Verlag Chemie, GmbH., (Lizenz US-W.1113 Eduard Kreuzhage) Weinheim/Bergstr. und Berlin — Printed in Germany — Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten.

JUSTUS LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE

559. Band

Über die Polymeren des Δ^1 -Piperideins¹⁾

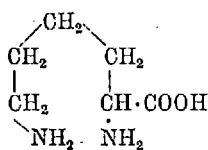
Von Clemens Schöpf, Alfred Komzak²⁾, Franz Braun und
Ernst Jacobi³⁾

Mitbearbeitet von Marie-Louise Bormuth, Marianne Bullheimer
und Irmgard Hagel⁴⁾

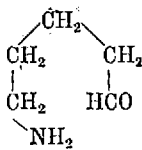
(Aus dem Institut für organische Chemie der Techn. Hochschule in Darmstadt)

[Eingelaufen am 2. August 1947.]

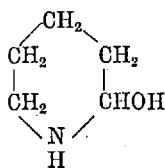
Denkt man sich das *Lysin* (I) nach dem Prinzip des Aminosäureabbaus von O. Neubauer⁵⁾ an der Aminosäuregruppierung zum Aldehyd abgebaut, so erhält man den δ -Amino-valeraldehyd (II), von dem in Analogie zu dem Verhalten des Hydrastinins und Kotarnins zu erwarten ist, daß er als innerer Aldehydammoniak (III) und weiter als innere Schiff'sche Base, d. h. also als Δ^1 -Piperidein (IV) reagieren wird.



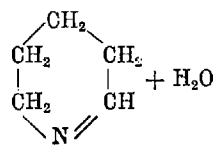
I



II



III



IV

Diese letztgenannte Verbindung ist in Substanz nicht bekannt; wohl aber sind in der Literatur *Polymere* des Δ^1 -Piperideins beschrieben, die auf verschiedenen Wegen erhalten wurden, die an sich zu dem mono-

¹⁾ Hrn. Geheimrat Professor Dr., Dr. h. c. Heinrich Wieland zum 70. Geburtstag am 4. Juni 1947 gewidmet.

²⁾ Die wesentlichen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit hat Herr A. Komzak in seiner Dissertation (Techn. Hochschule Darmstadt 1944) bereits niedergelegt; sie wurden am 20. 10. 1945 in Form einer kurzen Mitteilung „Die Konstitution der Polymeren des Δ^1 -Piperideins“ der Heidelberger Akademie der Wissenschaften eingereicht und auf der Tagung der Nordwestdeutschen Chemiker in Göttingen am 22. 9. 1946 vorgetragen. Vgl. das Referat Angew. Chem. A. 59, 29 (1947).

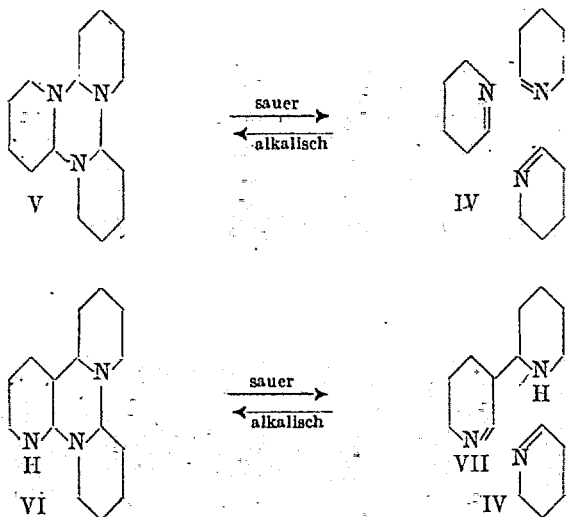
³⁾ Dissert. E. Jacobi, Techn. Hochschule Darmstadt 1946.

⁴⁾ Diplomarbeiten M. Bormuth, M. Bullheimer u. I. Hagel, Techn. Hochschule Darmstadt 1946, 1945 u. 1943.

⁵⁾ O. Neubauer u. K. Fromherz, Ztschr. physiol. Chem. 70, 348 (1910).

molekularen Δ^1 -Piperidein führen sollten. Da uns der δ -Amino-valeraldehyd und das Produkt der Wasserabspaltung, das Δ^1 -Piperidein als Ausgangsmaterial für Alkaloidsynthesen unter physiologischen Bedingungen dienen sollte, mußten wir uns zunächst mit der Untersuchung des Δ^1 -Piperideins bzw. seiner allein in der Literatur beschriebenen Polymeren befassen.

Bis jetzt sind zwei kristallisierte Polymere des Δ^1 -Piperideins beschrieben, eines vom Schmp. $61-62^\circ$ und ein zweites vom Schmp. $97-98^{**}$). Ein drittes vom Schmp. $72-74^\circ$, das mit den beiden bekannten Polymeren eine starke Schmelzpunktsenkung gibt, haben wir im Verlauf dieser Arbeit aufgefunden. Wir werden im folgenden zeigen, daß alle diese Verbindungen jeweils aus drei Molekülen Δ^1 -Piperidein aufgebaut sind, und bezeichnen das bei $61-62^\circ$ schmelzende Polymere als α -Tripiperidein, das bei $72-74^\circ$ schmelzende Polymere als β -Tripiperidein und das bei $97-98^\circ$ schmelzende als Isotripiperidein. Wir können weiter zeigen, daß α - und β -Tripiperidein Stereoisomere der Konstitution V sind, und daß sie unter geeigneten Bedingungen in 3 Mol. Δ^1 -Piperidein (IV) zerfallen, also wahre Polymere dieser Verbindung darstellen. Für das Isotripiperidein führen wir im folgenden den Nachweis, daß ihm die Formel VI zukommt, und daß es unter den Bedingungen, unter denen α - und β -Tripiperidein 3 Mol. Δ^1 -Piperidein liefern, in 1 Mol. Dekahydro- α,β -dipyridyl (Tetrahydroanabasin VII) und 1 Mol. Δ^1 -Piperidein zerfällt.

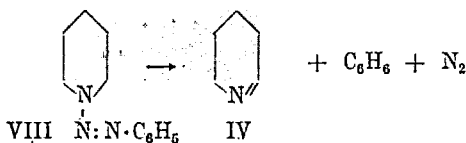


^{*}) Wir geben hier die von uns gefundenen Schmelzpunkte an, die wie alle Schmelzpunkte dieser Arbeit unkorrigiert sind. In der Literatur sind z. T. etwas niedrigere Werte angegeben.

Isotripiperidein ist demnach nicht ein einfaches Polymeres des Δ^1 -Piperideins; bei seiner Entstehung ist vielmehr durch eine Aldolkondensation eine Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung zwischen zwei Molekülen Δ^1 -Piperidein gebildet worden.

α -Tripiperidein (V)

Das α -Tripiperidein vom Schmp. 61–62° ist zuerst von E. Lellmann und R. Schwaderer⁷⁾ beschrieben worden. Sie erhielten es, als sie Piperidin mit Chlorkalk in *N*-Chlor-piperidin überführten und aus diesem mit alkoholischer Kalilauge Chlorwasserstoff abspalteten. Dabei entsteht offenbar zuerst Δ^1 -Piperidein, das sich zu 3 Molekülen zusammenlagert⁸⁾. α -Tripiperidein läßt sich; wie wir fanden, auch darstellen, wenn man aus Phenyldiazopiperidid (VIII) nach Fr. Heusler⁹⁾ durch Erhitzen Stickstoff abspaltet, und das offenbar über die Radikale Piperidyl und Phenyl¹⁰⁾ entstehende Reaktionsgemisch von Benzol, Piperidin, Piperidein und Diphenyl durch fraktionierte Destillation, und nicht, wie dies Heusler tat, unter Verwendung von Säure aufarbeitet, wobei α -Tripiperidein verändert werden kann. Auch hier entsteht zweifellos zuerst monomolekulares Δ^1 -Piperidein, das zusammen mit dem Benzol und Piperidin überdestilliert und sich im Destillat zu α -Tripiperidein polymerisiert, das dann hoch siedet und durch Destillation abgetrennt werden kann¹¹⁾. Wegen der verhältnismäßig geringen



Ausbeute an α -Tripiperidein und wegen der Unmöglichkeit, größere Mengen Phenyldiazopiperidid auf einmal zu zersetzen, kann dieses Verfahren mit dem der Darstellung aus *N*-Chlor-piperidin aber nicht konkurrieren, obwohl wir durch Zusätze¹²⁾ die Ausbeute an Piperidein bis auf 46% der Theorie steigern konnten. Noch ungünstiger ist die Darstellung von α -Tripiperidein durch Wasserabspaltung aus *N*-Oxy-piperidin, eine Reaktion, bei der R. Wolfenstein¹³⁾ nicht kristal-

⁷⁾ B. 22, 1318, 1328 (1889).

⁸⁾ Über die von uns beobachtete Bildung von β -Tripiperidein und Isotripiperidein bei dieser Reaktion vgl. später.

⁹⁾ A. 260, 245 (1890).

¹⁰⁾ Vgl. H. Wieland, E. Popper u. H. Seefried, B. 55, 1816 (1922).

¹¹⁾ Der Name „Isopiperidein“, den Heusler seinem nicht kristallisierten Präparat gegeben hat, ist aus der Literatur zu streichen. Im übrigen haben wir auch bei diesem Darstellungsverfahren einigemal Iso- statt α -Tripiperidein erhalten; vgl. später.

¹²⁾ Näheres darüber im Versuchsteil.

¹³⁾ B. 25, 2777 (1892).

liserendes „Piperidein“ erhalten hatte. Es bildet sich hierbei, wie sich schon aus den Versuchsangaben von Wolfenstein entnehmen läßt, ein Gemisch, das wir fanden, nur zu etwa einem Drittel aus α -Tri-piperidein besteht¹⁴).

Für das nach Lellmann und Schwaderer leicht in größerer Menge zugängliche α -Tri-piperidein glaubten diese Autoren durch Molekulargewichtsbestimmung in Eisessig und durch die Umsetzung mit Phenylsenföl die Formel eines Dimolekularen des Δ^1 -Piperideins bewiesen zu haben und bezeichneten es dementsprechend als „Dipiperidein“. Ihre Beweise sind aber, wie wir zeigen werden, nicht stichhaltig. Die von uns kryoskopisch in Benzol, in dem sich α -Tri-piperidein ohne Veränderung löst, ausgeführte Molekulargewichtsbestimmung zeigt vielmehr eindeutig, daß das Polypiperidein vom Schmp. 61–62° ein Trimolekulares des Δ^1 -Piperideins ist. Die Bezeichnung „Dipiperidein“ ist danach aus der Literatur zu streichen und durch α -Tri-piperidein zu ersetzen.

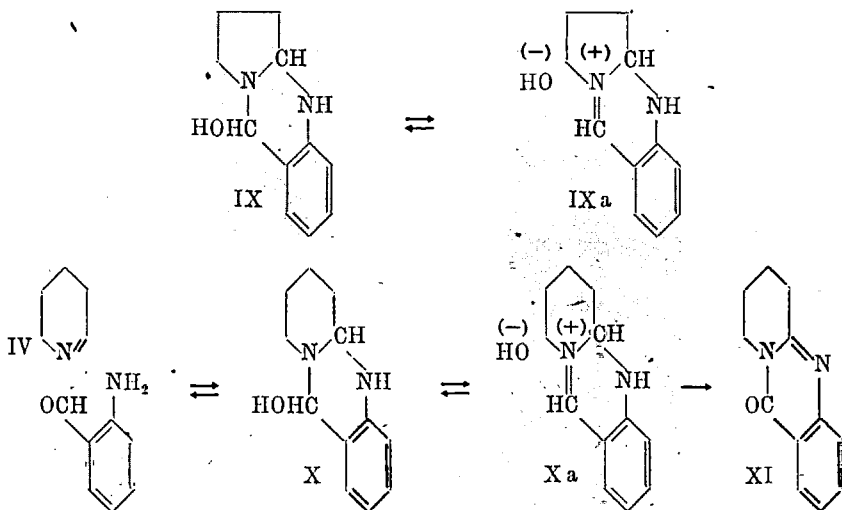
Für die Konstitution des α -Tri-piperideins sind zwei Reaktionen be-
weisend, die katalytische Hydrierung und die Umsetzung mit *o*-Amino-
benzaldehyd. Die katalytische Hydrierung, die in wässrig-salzsaurer
Lösung mit Platinoxid sehr rasch verläuft, lieferte unter Aufnahme
von 3 Mol. Wasserstoff in quantitativer Ausbeute Piperidin¹⁵). α -Tri-
piperidein verhält sich demnach bei der Hydrierung in salzsaurer Lö-
sung so, als ob 3 Mol. Piperidein (IV) vorlägen, von denen jedes durch
Aufnahme von 1 Mol. Wasserstoff in Piperidin übergeht. Ebenfalls
wie monomolekulares Δ^1 -Piperidein verhält sich α -Tri-piperidein, wenn
man die mit Salzsäure neutralisierte wässrige Lösung mit *o*-Amino-
benzaldehyd etwa im p_H -Bereich 3–5 bei 25–30° zusammenbringt.
Wir haben früher gezeigt, daß unter diesen Bedingungen die C=N-
Doppelbindung des aus γ -Amino-butyraldehyd-diäthylacetal bei der
Verseifung mit Säure hervorgehenden Δ^1 -Pyrrolins sich glatt mit *o*-
Amino-benzaldehyd zum Chinazolin-Derivat IX kondensiert, das als
Pseudobase im Gleichgewicht mit der quartären Base IXa, dem tief-
gelben 2,3-Trimethylen-1,2-dihydro-chinazolinium-hydroxyd steht¹⁶).
Bringt man nun die Lösung von α -Tri-piperidein in der berechneten
Menge Salzsäure mit einer wässrigen, auf p_H 3,6 oder 4,6 gepufferten
Lösung von *o*-Amino-benzaldehyd zusammen, so tritt sofort eine tief
orangefelbe Färbung auf. Das entstandene 2,3-Tetramethylen-1,2-
dihydro-chinazolinium-hydroxyd (Xa) läßt sich als leuchtend rotes,

¹⁴) Die von C. Paal u. M. Hubaleck, B. 34, 2757 (1901), J. v. Braun u. A. Steindorff, B. 38, 3103 (1905), St. Goldschmidt u. V. Voeth, A. 435, 265 (1924) u. N. I. Putochin, C. 1931 II 442, auf anderen, für die präparative Darstellung nicht in Frage kommenden Wegen dargestellten, nicht kristallisiert erhaltenen Piperidein-Präparate haben wir nicht untersucht. Welches der polymeren Piperideine beim Zerfall des nach O. Westphal u. W. de Burlet (Chemie, 58, 77 [1945]) aus *N*-Oxy-piperidin und Chlorsulfonsäure darstellbaren Reaktionsprodukts in alkal. Lösung erhalten wird, ist von den Autoren nicht angegeben.

¹⁵) Piperidin wurde bereits von E. Lellmann u. R. Schwaderer, B. 22, 1334 (1889) bei der Reduktion des α -Tri-piperideins mit Zinn und Salzsäure als einziges Reduktionsprodukt erhalten.

¹⁶) C. Schöpf u. Fr. Oechler, A. 523, 1 (1936).

dimorphes Pikrat in quantitativer Ausbeute ausfällen. Demnach verhält sich das α -Tripperidein auch bei der Kondensation mit *o*-Aminobenzaldehyd quantitativ so, als ob es aus 3 Mol. Δ^1 -Piperidein (IV) bestünde. Die Entstehung von X liefert außerdem den exakten Beweis dafür, daß in dem beim Zerfall des α -Tripperideins entstehenden Piperidein die Doppelbindung zwischen dem Stickstoff und dem benachbarten Kohlenstoffatom liegt.



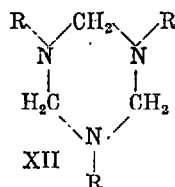
Die Konstitution des Pikrats von Xa ist dadurch bewiesen, daß es bei der Oxydation mit Chromsäure in das bekannte, von E. Späth und N. Platzer¹⁷⁾ dargestellte 2,3-Tetramethylen-chinazolon-(4) (XI) übergeht, genau so, wie sich das 2,3-Trimethylen-1,2-dihydro-chinazolinium-pikrat (IXa) durch Oxydation mit Chromsäure in 2,3-Trimethylen-chinazolon-(4) überführen läßt¹⁸⁾.

Stellt man nun die Frage, wie 3 Mol. Δ^1 -Piperidein zum α -Tripperidein so zusammentreten können, daß dieses schon beim Lösen in der berechneten Menge kalter verdünnter Salzsäure fast augenblicklich wieder in 3 Mol. Δ^1 -Piperidein zerfällt, so kommt man zu dem Ergebnis, daß das nur durch dreifache Aldehydammoniakbildung entsprechend der Formel V möglich ist. Mit dieser Formel ist im Einklang, daß α -Tripperidein mit Methylmagnesiumjodid in der Kälte kein Methan entwickelt, also kein aktives Wasserstoffatom enthält¹⁸⁾.

Für die Bildung des α -Tripperideins der Formel V lassen sich Analogien anführen. So entspricht der Übergang des Δ^1 -Piperideins in α -Tripperidein völlig dem Übergang des Acetaldehyds in Paraldehyd, nur daß er im Gegensatz zu diesem anscheinend keines Katalysators bedarf. Aus der Reihe der stickstoffhaltigen organischen Ver-

¹⁷⁾ B. 68, 2221 (1935).

¹⁸⁾ Beim Erhitzen auf 100° tritt langsam eine Gasentwicklung ein, offenbar weil dann das α -Tripperidein durch das Grignard-Reagens aufgespalten wird.



bindungen sind die aus primären Aminen und Formaldehyd darstellbaren *N*-Trialkyl-trimethylen-triamine (XII)¹⁹⁾ Analoga des α -Triperideins²⁰⁾, das sich von ihnen nur dadurch unterscheidet, daß die Reste R in ihm Piperidinringe zu den die Stickstoffatome verbindenden Kohlenstoffatomen schließen. So wie die *N*-Trialkyl-trimethylen-triamine unter dem Einfluß von Säuren in primäres Amin und Formaldehyd zerfallen, so zerfällt α -Triperidein unter den gleichen Bedingungen in 3 Mol. Δ^1 -Piperidein.

Von den Reaktionen des Δ^1 -Piperideins ist die Kondensation mit *o*-Amino-benzaldehyd bei 100° noch besonders bemerkenswert, da sie zu einem anderen Endprodukt führt als die Kondensation bei 25°. Zwar tritt auch hier zuerst die orangefarbene Farbe auf, die die intermediäre Bildung des 1,2-Dihydro-chinazoliniumsalses Xa beweist. Die Farbe verschwindet aber nach längerem Erhitzen, und aus der Lösung läßt sich eine Verbindung isolieren, die auf Grund ihrer Summenformel $C_{12}H_{14}N_2$ und ihrer Bildungsweise nichts anderes sein kann als das β -(ω -Amino-propyl)-chinolin (XV).

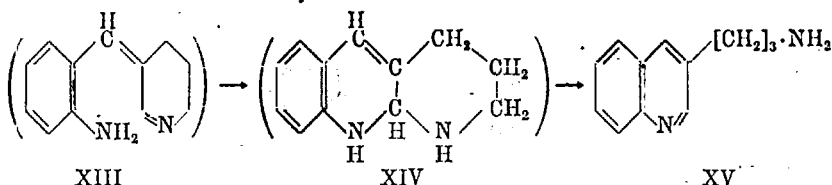
Der exakte Konstitutionsbeweis²¹⁾ ist dadurch erbracht, daß die Verbindung die Hälfte des Stickstoffs als nach van Slyke bestimmbarer Aminostickstoff enthält. Der zweite Stickstoff ist tertiär gebunden, da bei der Benzoylierung nur eine als Perchlorat leicht faßbare Monobenzoylverbindung entsteht. Daß dieser tertiäre Stickstoff einem Chinolinring angehört, wurde durch Chromsäureoxydation zu Chinolin- β -carbonsäure nachgewiesen.

Die Bildung des β -(ω -Amino-propyl)-chinolins (XV) kann man als eine Friedländerische Chinolinsynthese aus *o*-Amino-benzaldehyd und δ -Amino-valeraldehyd (II) auffassen, die hier eintreten kann, weil die zuerst eintretende Bildung des Chinazolinium-Derivates X eine reversible Reaktion ist, was dem *o*-Amino-benzaldehyd die Möglichkeit gibt, sich schließlich in irreversibler Weise quantitativ zum Chinolin-Derivat XV zu kondensieren. Im übrigen darf aus der Bildung des β -(ω -Amino-propyl)-chinolins (XV) keineswegs geschlossen werden, daß unter den Bedingungen seiner Bildung δ -Amino-valeraldehyd (II) als solcher im Gleichgewicht mit Δ^1 -Piperidein vorliegt. Vielmehr erscheint es durchaus möglich, daß sich die Kondensation von *o*-Amino-benzaldehyd mit Δ^1 -Piperidein in der Hitze so vollzieht, daß die Aldehydgruppe des *o*-Amino-benzaldehyds mit der durch die Nachbarschaft der C=N-Doppelbindung reaktionsfähigen Methylengruppe des Δ^1 -Piperideins eine Aldolkondensation zum Zwischenprodukt XIII erleidet. Wenn darin die Aminogruppe des *o*-Amino-benzaldehyds sich an die C=N-Doppelbindung des Piperidein-Restes zum Aldehydammoniak anlagert, so entsteht ein Gebilde XIV, daß sich durch Übergang in β -(ω -Amino-propyl)-chinolin (XV) zum aromatischen Zustand stabilisieren muß.

¹⁹⁾ Vgl. P. Duden u. H. Scharff, B. 28, 937 (1895); J. Graymore, Soc. 1931, 1490 (C. 1931 II 1576), 1932, 1353 (C. 1932 II 1633); Henry, Bull. Acad. Belg. 26, 200 (im C. nicht referiert).

²⁰⁾ Auf die Analogie zwischen den Formeln V und XII haben schon I. N. Iwaschtschenko u. A. V. Kirssanow, Bull. Soc. Chim. France [5] 3, 2289 (1936) (C. 1937 I 3802) hingewiesen, die dort allerdings die Formel V fälschlicherweise dem Isotriperidein zuerteilen.

²¹⁾ Diese Versuche sind von M. Bormuth u. M. Bullnheimer durchgeführt worden.



Die Bildung des Chinolin-Derivates XV ist demnach kein Beweis dafür, daß in wässrig-saurer Lösung δ -Amino-valeraldehyd im Gleichgewicht mit Δ^1 -Piperidein vorliegt. Unsere Beobachtungen lassen vielmehr nur erkennen, daß beim Zerfall des α -Tripperideins in wässrig-saurer Lösung Salze des Δ^1 -Piperideins entstehen, das wegen der Neigung zur Bildung von Sechsringen unter diesen Bedingungen wohl höchstens im Gleichgewicht mit seinem Hydrat III, der cyclischen Form des δ -Amino-valeraldehyds, steht.

Der Zerfall des α -Tripperideins in Δ^1 -Piperidein tritt auch beim genügend hohen Erhitzen der Substanz für sich ein. Das zeigen die von E. Lellmann und R. Schwaderer durchgeführten Molekulargewichtsbestimmungen, die nach der Methode von V. Meyer bei 230 bis 300° Werte zwischen 88 und 91 und nach der Methode von A. W. Hofmann bei 180–200° Werte zwischen 83 und 87 anstelle des für Δ^1 -Piperidein errechneten Wertes 83 ergeben haben²²⁾. Allerdings erfolgt dieser Zerfall verhältnismäßig langsam. Nur dann ist zu verstehen, daß das α -Tripperidein keinen konstanten Siedepunkt besitzt, sondern je nach der Geschwindigkeit der Wärmezufuhr z. B. bei 0,1 Torr in einem Temperaturintervall zwischen 60° und 140° übergetrieben werden kann, eine Beobachtung, die übereinstimmend von allen Bearbeitern des α -Tripperideins für die Destillation unter vermindertem Druck mitgeteilt wird, und die wir bestätigen können. Offenbar stellt sich das Gleichgewicht zwischen Δ^1 -Piperidein und α -Tripperidein so langsam ein, daß die Gleichgewichtseinstellung mit der Destillation nicht mitkommt, und so kein konstanter Siedepunkt erreicht wird.

Nach der Destillation vereinigen sich die Δ^1 -Piperidein-Moleküle wieder zum trimolekularen α -Tripperidein, das allerdings um so langsamer kristallin erstarrt, je schlechter das Vakuum und je höher dementsprechend die Destillationstemperatur war. Es scheint, daß dann außer der Dissoziation in Δ^1 -Piperidein auch noch andere Reaktionen eintreten²³⁾, die zu einem schwer kristallisierenden Reaktionsgemisch führen.

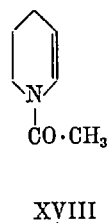
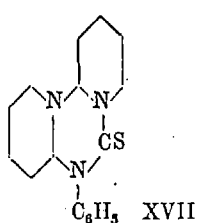
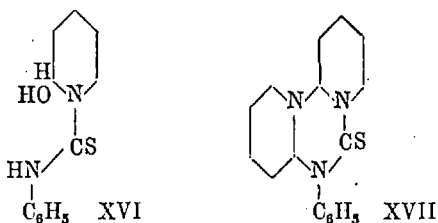
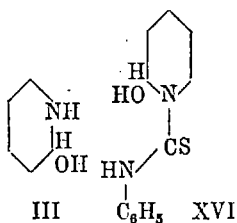
²²⁾ B. 22, 1321 (1889). Die Molekulargewichtsbestimmungen, die Lellmann u. Schwaderer in Eisessig als Lösungsmittel durchgeführt haben, und die sie zu der Annahme des Vorliegens eines Dipiperideins führten, sind wertlos, da hier das α -Tripperidein als Salz vorliegen muß und wenigstens zum Teil wie anscheinend in allen hydroxylhaltigen Lösungsmitteln zu Δ^1 -Piperidein dissoziiert ist.

²³⁾ Zum Teil dürfte Übergang in β -Tripperidein und Isotripperidein erfolgen; vgl. dort.

Besonders deutlich ist das Auftreten des monomolekularen Δ^1 -Piperideins in der Gasphase bei der bereits erwähnten thermischen Zersetzung des Phenyldiazopiperidids (VIII)⁹). Dabei destilliert die Verbindung trotz Anwendung einer Widmer-spirale zusammen mit dem daneben entstehenden Benzol und Piperidin über, zeigt also einen Siedepunkt, der dem monomolekularen Δ^1 -Piperidein entspricht. Versucht man aber anschließend das Destillat durch fraktionierte Destillation zu zerlegen, dann hat sich das Δ^1 -Piperidein inzwischen polymerisiert und man erhält es nach dem Abdestillieren des Benzols und Piperidins quantitativ als α -Tripiperidein im Rückstand.

Die Zusammenlagerung dreier Moleküle Δ^1 -Piperidein zu α -Tripiperidein kann aus reaktionskinetischen Gründen natürlich nicht in Form eines Dreierstoßes verlaufen, sondern dürfte über Zwischenstufen führen, die nicht im einzelnen formuliert werden sollen. Für die Dissoziation des α -Tripiperideins in hydroxylhaltigen Lösungsmitteln ist wohl ein analoger Mechanismus anzunehmen wie für die Zusammenlagerung. Ob er auch für die thermische Dissoziation gilt, bleibt dahingestellt.

Daß eine aldehydammoniak-artige Zusammenlagerung zweier Moleküle Δ^1 -Piperidein möglich ist, zeigt die Umsetzung des α -Tripiperideins mit Phenylsenföl, die schon Lellmann und Schwaderer untersucht haben²⁴). Bei mehrtägigem Stehen einer alkoholischen Lösung von α -Tripiperidein mit Phenylsenföl bei Zimmertemperatur bildet sich in guter Ausbeute eine schön kristallisierte Verbindung von der Summenformel $C_{17}H_{23}N_3S$, die also aus 2 Mol. Δ^1 -Piperidein und 1 Mol. Phenylsenföl entstanden ist²⁵). Ihre Konstitution kann angesichts der Bildung unter so milden Bedingungen kaum anders als durch die Formel XVII wiedergegeben werden²⁶). Diese Formel trägt der Tatsache Rechnung,



daß das Umsetzungsprodukt bei der katalytischen Hydrierung keinen Wasserstoff mehr aufnimmt, und die Verbindung könnte so zustande kommen, daß primär auftretendes Hydrat des Δ^1 -Piperideins (III) sich von allen in der Lösung im Gleichgewicht befindlichen Komponenten am raschesten mit dem Phenylsenföl zum Thioharnstoff XVI vereinigt, der mit einem weiteren Molekül Δ^1 -Piperidein bzw. des Hydrats III den Ringschluß zum Endprodukt XVII erleidet, das dem α -Tripiper-

²⁴) B. 22, 1323 (1889).

²⁵) Mit Schwefelkohlenstoff entsteht nach Lellmann u. Schwaderer, B. 22, 1333 (1889) ein analoges Umsetzungsprodukt der Summenformel $C_{11}H_{13}N_2S_2$, das analog XVII (S statt N- C_6H_5) konstituiert sein dürfte.

²⁶) Die Abspaltung von Anilin bei der thermischen Spaltung der Verbindung XVII erfolgt unter völliger Zersetzung des Moleküls, berechtigt also nicht zu Schlüssen über die Konstitution, wie sie Lellmann u. Schwaderer, B. 22, 1324 (1889), gezogen haben.

idein (V) analog gebaut ist, und sich von diesem nur dadurch unterscheidet, daß in ihm ein Molekül Phenylsenföl an die Stelle eines Moleküls Δ^1 -Piperidein getreten ist.

Für die andere Annahme, daß das Phenylsenföl aus dem α -Tripiperidein ein Mol Δ^1 -Piperidein herausbricht und sich an dessen Stelle setzt, läßt sich dagegen ein einleuchtender Reaktionsmechanismus nicht angeben. Auf keinen Fall aber kann das Umsetzungsprodukt mit Phenylsenföl (XVII) als Beweis dafür angesehen werden, daß das Polypiperidein vom Schmp. 61–62° als Dipiperidein aufzufassen ist. Damit entfällt der zweite und letzte Grund, der Lellmann und Schwaderer zur Annahme des Vorliegens eines „Dipiperideins“ geführt hatte, für das sie im übrigen auch keine befriedigende, den experimentellen Tatsachen Rechnung tragende Strukturformel aufstellen konnten.

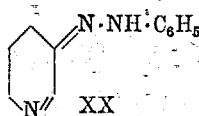
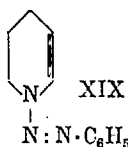
Schließlich haben wir auch noch die Versuche von Lellmann und Schwaderer über die *Acetylierung* des α -Tripiperideins mit Essigsäureanhydrid²⁷⁾ nachgeprüft. Wir fanden in Übereinstimmung mit ihren Angaben, daß dabei in einer Ausbeute von 81% d. Th. eine nicht basische, bei 56–59° und 0,6 Torr siedende Acetylverbindung entsteht, der auf Grund ihrer Zusammensetzung, ihres Siedepunkts und des von Lellmann und Schwaderer bestimmten Molekulargewichts nur die Formel des *N*-Acetyl- Δ^2 -piperideins (XVIII) zukommen kann. Sie läßt sich dementsprechend katalytisch zu *N*-Acetyl-piperidin hydrieren. Ihre Bildung ist analog dem Übergang eines Aldehyds oder Ketons in das Enolacetat beim Kochen mit Essigsäureanhydrid²⁸⁾. Da diese Reaktion nichts darüber aussagt, ob der betreffende Aldehyd oder das Keton in einem Gleichgewicht mit der Enolform steht, darf man auch hier aus der Bildung des *N*-Acetyl- Δ^2 -piperideins nicht etwa den Schluß ziehen, daß das Δ^1 -Piperidein mit Δ^2 -Piperidein in einem Gleichgewicht steht, in dem Δ^2 -Piperidein in nachweisbarer Menge vorliegt. Wir haben vielmehr bisher keine Beobachtung gemacht, die dafür spräche, daß das Δ^1 -Piperidein Neigung hat, in die Enaminform, das Δ^2 -Piperidein, überzugehen. Man kann daher umgekehrt erwarten, daß bei einer Reaktion, die zu Δ^2 -Piperidein führen sollte, statt dessen Δ^1 -Piperidein auftritt.

Mit *Phenyldiazoniumchlorid* konnten aus α -Tripiperidein je nach den Bedingungen der Kupplung zwei Reaktionsprodukte erhalten werden, ein rotes, sehr zersetzliches Öl, das bei der Kupplung in Pyridinlösung ausschließlich entstand, und auf keine Weise kristallisiert erhalten werden konnte, und ein schön kristallisiertes, praktisch farbloses Kupplungsprodukt, das sich unverändert in Säuren löst. Das rote Öl könnte die vom Δ^2 -Piperidein sich ableitende Diazoaminoverbindung der Formel XIX sein²⁹⁾. Für das kristallisierte Kupplungsprodukt, das nach seinem Molekulargewicht sich vom monomolekularen Δ^1 -Piperidein ableitet, kommt wegen seiner Beständig-

²⁷⁾ B. 22, 1331 (1889).

²⁸⁾ Vgl. z.B. den Übergang des Cyclohexanons in das Acetat des Cyclohexen-(1)-ols-(1): C. Mannich, B. 39, 1594 (1906); C. Mannich u. V. H. Hâncu, B. 41, 664 (1908).

²⁹⁾ Die Bedingungen der Darstellung wurden so gewählt, daß dabei bevorzugt Diazoaminoverbindungen entstehen sollten; vgl. H. Mehner, Journ. prakt. Chem. [2] 65, 401 (1902).



keit gegen kalte Mineralsäuren, die eine Diazoaminostruktur ausschließt, und wegen des Fehlens der Farbe in erster Linie die Formel XX in Frage. Wir nehmen also an, daß hier die Kupplung an der reaktionsfähigen Methylengruppe des Δ^1 -Piperideins stattgefunden hat. Den exakten Beweis hierfür konnten wir allerdings noch nicht führen, da Reduktionsversuche unter verschiedenen Bedingungen uns außer Anilin bisher keine identifizierbaren Verbindungen geliefert haben.

Reaktionen, die dem unveränderten Molekül des α -Tripiperideins zukommen, haben wir noch nicht aufgefunden. Mit Methyljodid entstand ein amorphes Umsetzungsprodukt. An Salzen des α -Tripiperideins haben wir nur das Reineckat kristallisiert erhalten können. Da es in gleicher Weise aus der ätherischen wie aus der wässrig-salzsäuren Lösung der Base entstand, dürfte es sich vom monomolekularen Δ^1 -Piperidein ableiten.

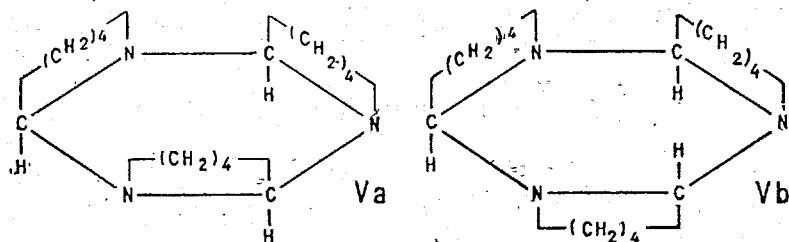
Für den Nachweis des α -Tripiperideins ist man demnach immer auf die Isolierung als Base und deren Identifizierung durch den Schmelzpunkt angewiesen, wobei die Verwendung von Säuren und die Anwendung höherer Temperaturen bei der Aufarbeitung vermieden werden muß, da sonst nur langsam oder nicht mehr kristallisierende Präparate erhalten werden. Für den Nachweis des Δ^1 -Piperideins und damit indirekt des α -Tripiperideins ist die rasch und quantitativ verlaufende Kondensation mit *o*-Amino-benzaldehyd zum 2,3-Tetramethylen-1,2-dihydro-chinazolinium-hydroxyd (Xa) und dessen Isolierung als Pikrat geeignet. Wir haben so das Vorliegen von α -Tripiperidein in öligen Basengemischen und z. B. auch in dem durch Destillation des *N*-Oxy-piperidins mit festem Kaliumhydroxyd nach Wolfenstein¹³⁾ erhaltenen Reaktionsgemisch nachweisen können³⁰⁾.

β -Tripiperidein (V)

Von einer Verbindung der Konstitution V sind zwei stereoisomere Racemformen möglich³¹⁾, die sich dadurch unterscheiden, daß in der einen (Va) alle Piperidinringe auf derselben Seite des Hexahydro-1,3,5-triazinrings, in der anderen (Vb) zwei Piperidinringe auf der einen, der dritte aber auf der entgegengesetzten Seite liegen.

³⁰⁾ Der Schluß ist nur zulässig, wenn ausschließlich das Pikrat von Xa gefaßt wird. Wird daneben das orangefarbene Dipikrat von XXIII gefunden, so liegt auch oder ausschließlich Isotripiperidein vor (vgl. dort).

³¹⁾ Stereoisomeriemöglichkeiten am dreiwertigen Stickstoff sind dabei nicht berücksichtigt, da für ihr Auftreten hier kein Grund vorliegt.



Das α -Tripiperidein vom Schmp. 61–62^o ist die eine der beiden stereoisomeren Verbindungen der Konstitution V, und zwar das stabile Stereoisomere. Es ist unbekannt und auf chemischem Wege nicht zu entscheiden, ob ihm die Formel Va oder Vb zukommt.

Das zweite mögliche Stereoisomere, das wir als β -Tripiperidein bezeichnen; haben wir zufällig in die Hand bekommen. Es kristallisierte einmal bei der Hochvakuumdestillation eines aus *N*-Chlor-piperidin dargestellten rohen α -Tripiperideins in der Kältefalle in einer kleinen Menge aus. Später haben wir es bei sehr vielen Versuchen zur Darstellung von α -Tripiperidein aus *N*-Chlor-piperidin dreimal als Hauptprodukt der Reaktion erhalten. Wir können noch nicht mit Sicherheit angeben, warum sich gerade in den beobachteten Fällen β -Tripiperidein gebildet hat, und welchen Weg man einschlagen muß, um es mit Sicherheit zu erhalten. Es scheint aber, daß es sich dann bevorzugt bildet, wenn Δ^1 -Piperidein sich bei Temperaturen unter Zimmertemperatur, also z. B. in Kältemischung polymerisiert.

β -Tripiperidein läßt sich, wenn man sehr rasch arbeitet, aus Aceton oder Petroläther umkristallisieren und so in schönen, konstant bei 72–74° schmelzenden Kristallen erhalten, die im Gegensatz zu den derben, gedrungenen Kristallen des α -Tripiperideins mehr langgestreckte, sechs- bis achtseitige Platten darstellen. Es zeigt die Zusammensetzung des Δ^1 -Piperideins und erweist sich bei der Molekulargewichtsbestimmung in Benzol als Trimolekulares des Δ^1 -Piperideins. Mit Methylmagnesiumjodid liefert es wie α -Tripiperidein in der Kälte kein Methan; es enthält also keinen aktiven Wasserstoff. In wässrig-saurer Lösung liegt es ausschließlich als Salz des Δ^1 -Piperideins (IV) vor. Dementsprechend nimmt eine solche Lösung bei der katalytischen Hydrierung je Mol β -Tripiperidein 3 Mol Wasserstoff unter ausschließlicher Bildung von Piperidin auf. Die Lösungen geben ferner mit *o*-Amino-benzaldehyd ausschließlich das Kondensationsprodukt Xa. Mit Phenylsenföl wird in alkoholischer Lösung in ausgezeichnete Ausbeute das bei 143–145° schmelzende Reaktionsprodukt $C_{17}H_{23}N_3S$ der wahrscheinlichen Konstitution XVII erhalten, das unter den gleichen Bedingungen auch aus α -Tripiperidein entsteht. Aus diesen Beobachtungen folgt für das β -Tripiperidein die gleiche Konstitution V, die vorstehend für das α -Tripiperidein bewiesen wurde.

β -Tripperidein geht sehr leicht, schon beim Aufbewahren der kristallisierten Substanz im Präparatenröhrchen, rascher bei etwas längerem Erwärmen oder auch schon bei zweitägigem Stehen in Acetonlösung praktisch quantitativ in das über 10° tiefer schmelzende α -Tripperidein über. α -Tripperidein ist aber nicht einfach polymorph und β -Tripperidein stellt nicht etwa eine instabile Kristallmodifikation des α -Tripperideins dar. Denn α - und β -Tripperidein geben miteinander eine starke Schmelzpunktserniedrigung auf etwa $45\text{--}55^\circ$, ein Beweis dafür, daß auch in der Schmelze die Verschiedenheit der Verbindungen wenigstens eine Zeit lang bestehen bleibt. Auch im Dampfzustand ist β -Tripperidein bei nicht zu hoher Temperatur wenigstens für kurze Zeit beständig; im Hochvakuum übergetriebenes β -Tripperidein erstarrt wieder zu Kristallen von nur wenig niedrigerem Schmelzpunkt.

Die Schmelzpunktserniedrigung einer Mischung von α - und β -Tripperidein beweist, daß es sich bei diesen Verbindungen um eine Isomerie des Moleküls handeln muß, die angesichts der Tatsache, daß beide die gleiche Konstitutionsformel V besitzen, nur auf Stereoisomerie beruhen kann. α -Tripperidein stellt demnach das eine, β -Tripperidein das andere der beiden theoretisch möglichen Stereoisomeren (Va bzw. Vb) dar, wobei es bemerkenswert ist, daß das labile Stereoisomere den höheren Schmelzpunkt besitzt. Der leichte Übergang von β - in α -Tripperidein dürfte mit dem leichten Aufgehen des Hexahydro-1,3,5-triazinrings zum monomolekularen Δ^1 -Piperidein zusammenhängen. Genauer über den Chemismus dieses Übergangs läßt sich jedoch noch nicht aussagen.

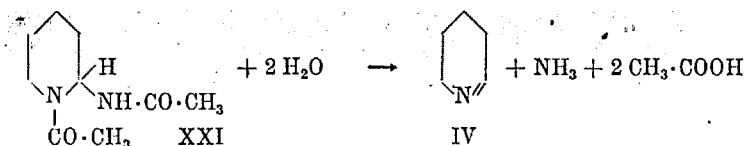
Da das labile β -Tripperidein für unsere weiteren Untersuchungen ohne Interesse war, haben wir uns mit seiner Charakterisierung und Konstitutionsermittlung begnügt, und uns nicht weiter mit der eingehenden Untersuchung der Bedingungen seiner Bildung befaßt. Wir halten es für möglich, daß es immer primär als erstes Polymerisationsprodukt des Δ^1 -Piperideins entsteht, das dann erst sekundär bei der üblichen Aufarbeitung in die α -Verbindung übergeht.

Isotripperidein (VI)

Das Isotripperidein vom Schmp. $97\text{--}98^\circ$ ist zuerst von F. B. Ahrens auf einem wenig durchsichtigen Weg, nämlich durch elektrolitische Oxydation vom N-Nitroso-piperidin in 30proz. Schwefelsäure dargestellt worden³²⁾. Er hielt es auf Grund einer offenbar falschen Molekulargewichtsbestimmung in Benzol für ein Dimolekulares des Δ^1 -Piperideins. J. N. Iwaschtschenko und A. V. Kirssanow zeigten dann durch unmittelbaren Vergleich mit einem von ihnen durch Alkalispaltung von α -Amino-N.N'-diacetyl-piperidin (XXI) erhaltenen Polypiperidein vom Schmp. $94\text{--}95^\circ$, daß die auf beiden Wegen dargestellten Verbindungen identisch waren. Sie fanden weiter, daß es

³²⁾ B. 30, 533 (1897).

sich um ein Trimeres des Piperideins handelt, das sie dementsprechend als „Tripiperidein“ bezeichneten³³⁾.



Wir selbst erhielten das bei 97–98° schmelzende Tripiperidein, das wir nunmehr als *Isotripiperidein* bezeichnen, öfters, als wir aus *N*-Chlor-piperidin nach der Vorschrift von E. Lellmann und R. Schwaderer⁷⁾ Salzsäure absplatteten, anstelle des erwarteten α -Tripiperideins. Auch Gemische der beiden Polymeren wurden manchmal erhalten, ohne daß es uns bisher gelang, mit Sicherheit festzustellen, worauf diese Unterschiede in den Versuchsergebnissen zurückzuführen waren.

Derselbe Bearbeiter erhielt bei einigen Versuchen α -Tripiperidein und beim nächsten, scheinbar in gleicher Weise angesetzten Isotripiperidein und umgekehrt; auch bei der Darstellung des α -Tripiperideins aus Benzoldiazopiperidid wurde mehrmals an seiner Stelle Isotripiperidein erhalten. Als Erklärung für diese scheinbare Zufälligkeit bleibt nur die Annahme, daß es sich dabei um die katalytische Wirkung von mit- oder eingeschleppten Verbindungen handelt. Da wir festgestellt haben, daß Piperidin-Hydrochlorid die Bildung von Isotripiperidein aus α -Tripiperidein katalysiert, vermuten wir, daß die Kohlensäure der Luft, die wir im allgemeinen nicht eigens ausgeschaltet haben, oder auch mitgeschleppte oder aus der Laboratoriumsluft stammende Spuren einer anderen Säure vielleicht mit immer vorhandenem Piperidin zusammen die Bildung von Isotripiperidein bewirken³⁴⁾.

Auf jeden Fall lieferte uns die Chlorwasserstoff-Abspaltung aus *N*-Chlor-piperidin, die Lellmann und Schwaderer ausschließlich α -Tripiperidein geliefert hatte, auch reichliche Mengen Isotripiperidein, das sich im übrigen, wie bereits erwähnt, auch durch Umlagerung von α -Tripiperidein erhalten und von diesem nötigenfalls leicht durch fraktionierte Kristallisation aus Aceton trennen läßt. Um ganz sicher zu sein, daß unsere so gewonnenen Präparate mit denen von Ahrens bzw. Iwaschtschenko und Kirssanow identisch waren, haben wir uns Isotripiperidein nach den zuletzt genannten Autoren aus α -Amino-*N,N'*-diacetyl-piperidil (XXI) bereitet und durch unmittelbaren Vergleich mit unseren Präparaten identifiziert³⁵⁾. Da andererseits Iwaschtschenko und Kirssanow ihre Präparate mit einem nach Ahrens aus *N*-Nitroso-piperidin dargestellten unmittelbar verglichen haben, so erscheint die Identität aller dieser Präparate sichergestellt.

Iwaschtschenko und Kirssanow haben nun für das Isotripiperidein die Formel V aufgestellt³³⁾, die, wie wir in den vorstehenden

³³⁾ Bull. Soc. Chim. France (5) 3, 2289 (1936) (C. 1937 I, 3802, 4639). Die Autoren sind auch teilweise als Ivastchenko u. Kirsanov im Zentralblatt referiert.

³⁴⁾ Aus äußeren Gründen war es uns noch nicht möglich, diese Hypothese in genügend zahlreichen Versuchen experimentell nachzuprüfen. In zwei Versuchen, die unter sorgfältigem Ausschluß von Kohlendioxyd und Säurespuren bei der Aufarbeitung durchgeführt wurden, wurde erwartungsgemäß α -Tripiperidein erhalten.

³⁵⁾ Diese Versuche sind von Frl. I. Hagel ausgeführt worden; über eine Verbesserung der Darstellung des α -Amino-diacetyl-piperidins vgl. den Versuchsteil.

Abschnitten nachgewiesen haben, dem α - und β -Tripiperidein zukommt. Hätte Isotripiperidein die gleiche Konstitution, dann müßte es in wässrig-salzsaurer Lösung gleichfalls in 3 Mol. Δ^1 -Piperidein zerfallen; das ist jedoch nicht der Fall. Es läßt sich vielmehr durch katalytische Hydrierung und durch Kondensation mit *o*-Amino-benzaldehyd nachweisen, daß Isotripiperidein in wässrig-salzsaurer Lösung nur zwei Spaltstücke liefert, und zwar neben einem Mol. Δ^1 -Piperidein (IV) ein Mol. *Dekahydro- α,β -dipyridyl* (= Tetrahydroanabasin, VII). Isotripiperidein ist demnach kein Stereoisomeres, sondern ein *Strukturisomeres* des α - und β -Tripiperideins. Die von Iwaschtschenko und Kirssanow ihm zugeschriebene Konstitutionsformel V bedarf der Berichtigung.

Hydriert man Isotripiperidein in wässrig-salzsaurer Lösung katalytisch unter den Bedingungen, unter denen α -Tripiperidein unter Aufnahme von 3 Mol Wasserstoff 3 Mol Piperidin liefert, so erhält man unter Aufnahme von nur 2 Mol Wasserstoff drei Hydrierungsprodukte. Neben *Piperidin*, das zu rund einem Drittel der eingesetzten Piperideinreste isoliert wurde, entstanden zwei stereoisomere Hydrierungsprodukte der gleichen Konstitution XXII, das α,β -Dipiperidyl und das *Epi- α,β -dipiperidyl*, die zusammen rund zwei Dritteln der eingesetzten Piperideinreste entsprachen³⁶⁾.

Das α,β -Dipiperidyl war in allen seinen Eigenschaften mit dem schon in der Literatur beschriebenen³⁷⁾, durch ein in wasserfreiem Alkohol unlösliches Dihydrochlorid ausgezeichnetes Hydrierungsprodukt des α,β -Dipyridyls identisch und wurde durch unmittelbaren Vergleich mehrerer Salze und des Bis-phenylthioharnstoff-Derivats mit diesem identifiziert. Das *Epi- α,β -dipiperidyl*, das zweite theoretisch mögliche Racemat der Verbindung XXII, war noch nicht in der Literatur beschrieben. Es wurde erstmalig als Nebenprodukt bei der katalytischen Hydrierung des α,β -Dipyridyls isoliert, und durch unmittelbaren Vergleich einer Reihe von Salzen sowie des Bis-phenylthioharnstoffs mit dem dritten Hydrierungsprodukt des Isotripiperideins identifiziert³⁸⁾.

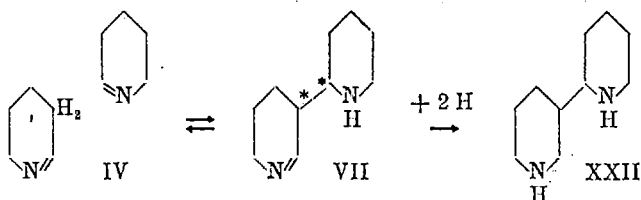
Die Darstellung der stereoisomeren α,β -Dipiperidyle (XXII) aus Isotripiperidein beweist, daß in diesem Polymeren des Δ^1 -Piperideins eine C—C-Bindung zwischen zwei Piperideinresten vorliegen muß, die von der α -Stellung des einen Restes zur β -Stellung des zweiten geht. Eine solche Bindung kann aber von dem primär entstehenden Δ^1 -Piperidein aus nur zustande kommen, wenn zwei Mol eine *Aldolkondensation* er-

³⁶⁾ Die von F. B. Ahrens, B. 30, 535 (1897); 31, 2273 (1898) bei der Reduktion des Isotripiperideins mit Zinn und Salzsäure isolierten Reduktionsprodukte, die er für ungesättigte Amine der Fettreihe hielt, sind vermutlich mit α,β -Dipiperidyl („ β -Base“ von Ahrens) und *Epi- α,β -dipiperidyl* („ α -Base“ von Ahrens) identisch.

³⁷⁾ F. Blau, Monatsh. Chem. 13, 330 (1892); B. 24, 326 (1891). C. R. Smith, Amer. Soc. 50, 1936 (1928); 54, 397 (1932). Die optisch aktiven, durch Hydrierung optisch aktiver Alkaloide erhaltenen α,β -Dipiperidyle, die A. Orchoff mit D. Brodsky, B. 66, 466 (1933), mit N. Proskurnina, Bull. Soc. Chim. France [5] 5, 29 (1933) u. A. Wenusch u. R. Schöller, B. 67, 1344 (1934) beschrieben haben, kommen für den Vergleich mit obigen Racemverbindungen nicht in Betracht.

³⁸⁾ Diese Versuche hat gleichfalls Frl. I. Hagel durchgeführt.

leiden, wobei die durch die Nachbarschaft der C=N-Doppelbindung reaktionsfähige Methylengruppe in der β -Stellung des einen Moleküls sich an die C=N-Doppelbindung des zweiten Moleküls anlagert, so daß als Reaktionsprodukt das Dekahydro- α,β -dipyridyl der Formel VII



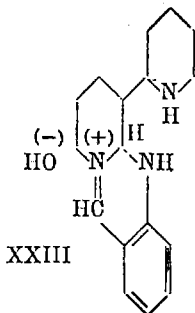
entsteht. Dieses lagert noch ein drittes Molekül Δ^1 -Piperidein unter doppelter Aldehydammoniakbildung an, wodurch der verhältnismäßig stabile Sechsring des Isotripiperideins gebildet wird, dem danach die Konstitution VI zukommen muß. So wie α -Tripiperidein in wässrig-salzsaurer Lösung an den Stellen der leicht löslichen Aldehydammoniakbindungen in drei Mol. Δ^1 -Piperidein (IV) zerfällt, so zerfällt Isotripiperidein gleichfalls an diesen Stellen in ein Mol. Δ^1 -Piperidein (IV) und ein Mol. Dekahydro- α,β -dipyridyl (VII), dessen Hydrierung die stereoisomeren α,β -Dipiperidyle XXII liefert.

Hierbei liegt eine Schwierigkeit noch darin, daß die Hydrierung von VII, das durch einen Zerfall des sterisch einheitlichen Isotripiperideins zustande kommt, bei dem die Asymmetriezentren des Moleküls nicht berührt werden, auch zu einem stereochemisch einheitlichen Hydrierungsprodukt führen sollte, da ja auch bei der Hydrierung die Asymmetriezentren nicht unmittelbar berührt werden. Tatsächlich entsteht aber ein Gemisch, was nur dann zu verstehen ist, wenn entweder unter dem Einfluß des Katalysators vor der Hydrierung eine Verschiebung der Doppelbindung nach der Δ^2 -Stellung eintritt, oder wenn im Isotripiperidein die beiden Asymmetriezentren des Tetrahydroanabasins (VII), die in der Formel durch Sternchen bezeichnet sind, in einer Konfiguration vorliegen, die dort stabil ist, in den durch Hydrierung entstehenden stereoisomeren α,β -Dipiperidylen aber der weniger stabilen Form entspricht. Unter dem Einfluß des Katalysators tritt dann offenbar beim Übergang in die α,β -Dipiperidyle durch Umlagerung des durch die Nachbarschaft der C=N-Doppelbindung reaktionsfähigen Wasserstoffatoms in β -Stellung ein teilweiser Übergang in das Stereoisomere ein, bevor das Molekül durch Hydrierung zu den Dipiperidylen stabilisiert wird.

Durch das Ergebnis der katalytischen Hydrierung ist bereits die Konstitution des Isotripiperideins im Sinne der Formel VI festgelegt und sein Bildungsmechanismus geklärt. Mit dieser Konstitution ist in bester Übereinstimmung, daß das Isotripiperidein im Gegensatz zum α - und β -Tripiperidein mit Methylmagnesiumjodid schon bei Zimmertemperatur ein Mol Methan entwickelt, also ein aktives Wasserstoffatom enthält³⁹⁾.

³⁹⁾ Beim Erwärmen auf 100° wird rasch noch mehr Gas entwickelt, wobei offenbar das Molekül des Isotripiperideins gespalten wird. Die dabei auftretenden Veränderungen haben wir ebenso wenig wie beim α -Tripiperidein präparativ untersucht.

Auch die analog wie beim α - und β -Tripperidein durchgeführte Kondensation mit *o*-Amino-benzaldehyd beweist das Vorliegen der Spaltstücke IV und VII in der wässrig-salzsaurer Lösung des Isotripperideins. Ebenso wie beim α -Tripperidein färbt sich beim Zusammengeben der Reaktionsteilnehmer die Lösung sofort intensiv orangegelb. Die Farbe bleibt aber deutlich heller als die einer gleichkonzentrierten, aus α -Tripperidein hergestellten Lösung und der exakte colorimetrische Vergleich bei zwei verschiedenen Wellenlängen im Pulfrich-Photometer ergab, daß sich die Farbintensitäten der Lösungen wie 3:2 verhalten. Das stimmt bestens damit überein, daß aus α -Tripperidein *dreimal* der chromophore Komplex des 1,2-Dihydro-chinazoliniumsalzes Xa entsteht, während aus Isotripperidein dieser chromophore Komplex sich nur *zweimal* bildet, nämlich einmal in Form derselben, aus Δ^1 -Piperidein (IV) hervorgegangenen 1,2-Dihydro-chinazoliniumverbindung Xa und einmal in Form der aus Tetrahydroanabasin (VII) hervorgegangenen, analogen, durch einen Piperidinrest substituierten 1,2-Dihydro-chinazoliniumverbindung XXIII.



Das Vorliegen der beiden Kondensationsprodukte X und XXIII läßt sich nun leicht präparativ dadurch beweisen, daß man die Lösung mit Pikrinsäure fällt. Das in praktisch quantitativer Ausbeute entstehende Pikrat erweist sich als uncinheitlich, und läßt sich durch Auskochen mit einer unzureichenden Menge Eisessig oder besser Methanol in ein darin schwer lösliches Pikrat und in das wesentlich leichter lösliche rote 2,3-Tetramethylen-1,2-dihydro-chinazolinium-pikrat (Xa) trennen. Das schwerlösliche Pikrat erweist sich durch die Analyse als das Dipikrat der Verbindung XXIII. Es ist im Gegensatz zu dem leuchtend zinnoberroten 2,3-Tetramethylen-1,2-dihydro-chinazolinium-pikrat (Xa) orangefarben, da sich in ihm das Rot des 1,2-Dihydro-chinazoliniumpikrats mit dem Gelb des Piperidin-pikrats überlagert. Beide Pikrate entstehen in dem erwarteten Verhältnis 1:1. Beim Dipikrat von XXIII hat sich kein Hinweis dafür finden lassen, daß es aus Stereoisomeren besteht. Die beiden asymmetrischen Kohlenstoffatome, die aus dem Isotripperidein stammen, dürften in ihm die Konfiguration beibehalten haben, in der sie im Isotripperidein vorliegen.

Die quantitative Bildung der Pikrate von Xa bzw. XXIII bei der Kondensation mit *o*-Amino-benzaldehyd bei Zimmertemperatur zeigt, daß das Gleichgewicht zwischen Δ^1 -Piperidein und Tetrahydroanabasin sowie *o*-Amino-benzaldehyd einerseits und den Kondensationsprodukten X bzw. XXIII andererseits unter unseren Versuchsbedingungen völlig auf der Seite der Kondensationsprodukte liegt. Dies folgt weiter daraus, daß auch bei langem Stehenlassen der Versuchsansätze die Mengen von X und XXIII sich nicht ändern. Nun geht aber unter den Bedingungen der Kondensation Δ^1 -Piperidein rasch in Tetrahydroanabasin

über⁴⁰⁾. Würde also eine merkliche Menge Δ^1 -Piperidein im Gleichgewicht vorliegen, so müßte sich beim Stehenlassen der Versuchsansätze immer mehr XXIII auf Kosten von X bilden, was nicht der Fall ist.

Während für das α - und β -Tripiperidein der Paraldehyd das Analogon aus der Reihe der sauerstoffhaltigen organischen Verbindungen darstellt, ist für das Isotripiperidein das von E. Späth, R. Lorenz und E. Freund aufgeklärte Aldoxan, das 6-Oxy-2,4-dimethyl-1,3-dioxan⁴¹⁾ das Analogon. So wie im Aldoxan das durch Aldolkondensation zweier Moleküle Acetaldehyd entstandene Aldol mit einem weiteren Molekül Acetaldehyd zum cyclischen Acetal zusammengetreten ist, so ist im Isotripiperidein (VI) das durch Aldolkondensation zweier Moleküle Δ^1 -Piperidein gebildete Tetrahydroanabasin (VII) mit einem dritten Mol. Δ^1 -Piperidein zum cyclischen Aldehydammoniak VI zusammengetreten. Ein Unterschied im Verhalten der in ihrem Aufbau analogen Verbindungen besteht allerdings darin, daß sowohl Paraldehyd wie, im Hochvakuum, auch Aldoxan einen konstanten Siedepunkt besitzen, während Isotripiperidein ebensowenig wie α -Tripiperidein einen definierten Siedepunkt zeigt. Offenbar tritt auch hier beim Erhitzen ein thermischer Zerfall in die Bruchstücke IV und VII ein, der langsamer verläuft, als die Substanz überdestilliert und so die Ausbildung eines konstanten Siedepunkts verhindert.

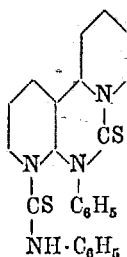
Mit der durch die vorstehend geschilderten Umsetzungen bewiesenen Konstitutionsformel VI des Isotripiperideins sind nun auch alle übrigen von uns nachgeprüften Umsetzungen in Einklang. Mit Phenylsenföl reagiert Isotripiperidein in Alkohol bei Zimmertemperatur nur äußerst langsam und unvollständig. In der Hitze bildet sich dagegen rasch ein in Alkohol schwer lösliches, farbloses Umsetzungsprodukt von der Summenformel $C_{24}H_{28}N_4S_2$, das also aus zwei Mol. Δ^1 -Piperidein bzw. einem Mol. Tetrahydroanabasin (VII) und zwei Mol. Phenylsenföl entstanden ist⁴²⁾. Wir nehmen an, daß ihm die Konstitutionsformel XXIV zukommt, haben allerdings den eindeutigen Beweis für diese Annahme nicht geführt.

Die Bildung einer Verbindung XXIV aus Tetrahydroanabasin durch analoge Reaktionen, wie sie bei der Besprechung des bei 143–145° schmelzenden Reaktionsprodukts von α -Tripiperidein mit Phenylsenföl diskutiert wurden, erscheint einleuchtend. Die angenommene Konstitution ist analog der des Isotripiperideins, nur ist ein Piperideinrest durch den Rest des Phenylsenföls ersetzt, und der sekun-

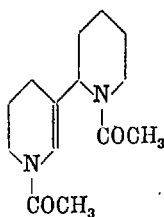
⁴⁰⁾ Vgl. den letzten Abschnitt; Einzelheiten werden später veröffentlicht. Die Kondensation von Isotripiperidein mit o-Amino-benzaldehyd bei 100° ist S. 21 geschildert.

⁴¹⁾ B. 76, 57 (1943); vgl. E. A. Schilow, C. 1935 II, 2879 und E. Hanschke, B. 76, 180 (1943).

⁴²⁾ F. B. Ahrens hat dieses Umsetzungsprodukt in offenbar nicht ganz reinem Zustand in Händen gehabt, das er B. 31, 2272 (1898) als „gelben“ Kristallkuchen vom Schmp. 183° beschreibt. Auch J. N. Iwaschtschenko u. A. Kirssanow geben a. a. O. für das von ihnen dargestellte Produkt, dem sie irrtümlich nur die halbe Molekülgröße zuerteilen, den Schmp. 181–182° an.



XXIV



XXV

däre Stickstoff hat noch einmal ein Mol Senföl angelagert. Die Ausbeute an der Verbindung XXIV beträgt 77% der nach Formel VI zu erwartenden Menge. Daneben läßt sich das bei 143–145° schmelzende Kondensationsprodukt XVII isolieren, das aus α -Tripiperidein in der Kälte als einziges Reaktionsprodukt erhalten wird. Es stammt aus dem zweiten Spaltstück des Isotripiperideins, dem Δ^1 -Piperidein.

Beim Erwärmen mit Essigsäureanhydrid werden aus Isotripiperidein zwei nicht basische Acetylverbindungen erhalten, die sich durch fraktionierte Destillation trennen lassen. Neben dem aus α -Tripiperidein fast ausschließlich entstehenden *N*-Acetyl- Δ^2 -piperidein (XVIII) wird ein bedeutend höher siedendes Isomeres erhalten, dem wegen des hohen Siedepunkts die dimolekulare Formel XXV zukommen muß. Es bildet sich aus dem im Isotripiperidein enthaltenen Tetrahydroanabasin (VII) in der gleichen Weise, wie das *N*-Acetyl- Δ^2 -piperidein (XVIII) aus Δ^1 -Piperidein⁴³⁾. Beide Acetylverbindungen entstehen nebeneinander in dem von der Theorie geforderten Mengenverhältnis. Daß XXV nur schwer katalytisch hydrierbar ist, dürfte seinen Grund in der Lage der Doppelbindung haben, die von einem quartären Kohlenstoffatom ausgeht.

Reaktionen, die dem undissoziierten Molekül VI des Isotripiperideins zukommen, haben wir noch nicht aufgefunden. Ebensovienig haben wir bisher kristallisierte Salze des Isotripiperideins darstellen können. Für seinen Nachweis ist man daher einstweilen analog wie beim α -Tripiperidein auf die Isolierung in Substanz bzw. auf den Nachweis der Spaltstücke IV und VII durch die Kondensation mit *o*-Amino-benzaldehyd angewiesen.

Die Konstitutionsformel VI des Isotripiperideins läßt schließlich auch einige weitere Unterschiede im Verhalten gegenüber dem α -Tripiperidein verstehen. So ist Isotripiperidein mit der vermutlich leichter hydratisierbaren sekundären Aminogruppe wesentlich leichter in Wasser löslich als das α -Tripiperidein, das nur tertiäre Stickstoffatome enthält. In Äther und Aceton ist Isotripiperidein dagegen schwerer löslich als α -Tripiperidein. Während im α -Tripiperidein der mittlere Ring, ein Hexahydro-1,3,5-triazinring nur aus C-N-Bindungen aufgebaut ist, sind im Isotripiperidein am mittleren Ring, der hier ein hydrierter Pyrimidinring ist, zwei C-C-Bindungen beteiligt. Das bedingt eine größere Stabilität des Isotripiperideins, die sich in einem weniger leichten Zerfall in die Bruchstücke IV und VII äußert. Das zeigt sich z. B. bei der katalytischen Hydrierung, die offenbar nicht an den intakten

⁴³⁾ J. N. Iwaschtschenko u. A. W. Kirssanow (C. 1937 I, 4639) haben offenbar nur die niedriger siedende Verbindung XVIII isoliert.

Molekülen V und VI angreift, sondern nur die Doppelbindungen der Bruchstücke erfaßt. Während nun in wässrig-salzsaurer Lösung α - und β -Tripiperidein sowie Isotripiperidein glatt hydrierbar sind, d. h. also unter diesen Bedingungen leicht in ihre Bruchstücke zerfallen, ist in Methanol nur das α -Tripiperidein und vermutlich auch das β -Tripiperidein hydrierbar, also auch zum Zerfall geneigt. Isotripiperidein wird dagegen unter diesen Bedingungen nicht hydriert, ist also offenbar in Methanol nicht merklich in die Bruchstücke VII und IV zerfallen. In der gleichen Richtung liegt die Tatsache, daß α -Tripiperidein in Alkohol schon bei Zimmertemperatur mit Phenylsenföl zu XVII reagiert, während Isotripiperidein wesentlich langsamer reagiert und erst in siedendem Alkohol rasch zur Reaktion zu bringen ist. Sehr deutlich zeigt sich die größere Beständigkeit des Isotripiperideins auch bei der Titration seiner wässrigen Lösung mit Salzsäure. Wegen der Analogie der Tripiperideine mit anderen Aldehydammoniakverbindungen, z. B. dem Hexamethylenetetramin und dem *N*-Trimethyl-trimethylen-triamin (XII; $R = CH_3$), die jeweils nur mit einem Äquivalent Säure Salze bilden⁴³⁾, ist zu erwarten, daß sie keine dreisäurigen Basen sind. Wenn trotzdem α -Tripiperidein in Wasser sich glatt mit verdünnter Salzsäure als dreisäurige Base titrieren läßt, so offenbar nur deshalb, weil es bei Gegenwart von Salzsäure praktisch augenblicklich in das in wässriger Lösung nachgewiesene Spaltstück, das Δ^1 -Piperidein (IV) oder auch sein Hydrat (III) zerfällt. Titriert man dagegen eine wässrige Lösung von Isotripiperidein mit Salzsäure, so werden zwar zwei Äquivalente Säure sofort verbraucht, dann wird aber die Titration „ziehend“, und es dauert beim Zusatz einiger Tropfen Salzsäure jeweils einige Sekunden, bis die Säure verbraucht ist; schließlich werden aber auch hier scharf drei Äquivalente Säure verbraucht. Diese Beobachtung ist kaum anders zu erklären als durch die Annahme, daß das Isotripiperidein selbst nur zwei Äquivalente Säure verbraucht, und daß erst der hier langsamer als beim α -Tripiperidein bei der Titration eintretende Zerfall in die Bruchstücke schließlich die drei basischen Stickstoffatome der in der Lösung nachgewiesenen Bruchstücke IV und VII liefert.

Von einer Verbindung der Konstitution VI sind nicht weniger als acht stereoisomere Racemate möglich, die hier nicht im einzelnen diskutiert werden sollen. Bekannt ist bisher nur eine einzige Verbindung dieser Konstitution, die vermutlich der stabilsten Konfiguration entspricht.

Die Beziehungen zwischen α -Tripiperidein und Isotripiperidein sowie ihren Spaltstücken

Die „Umlagerung“ von α -Tripiperidein in das stabilere Isotripiperidein, die beim Erwärmen der Acetonlösung mit etwas Piperidin-Hydrochlorid und auch schon beim Erhitzen in indifferenten Lösungsmitteln scheinbar ohne Katalysator eintritt, läßt sich auf eine teilweise Dissoziation des ersteren in Δ^1 -Piperidein und dessen Aldolkondensation zum Tetrahydroanabasin (VII) zurückführen. In der mit Salzsäure neutralisierten wässrigen Lösung von α -Tripiperidein verläuft diese Aldolkondensation schon bei Zimmertemperatur. Sie führt, da die Spaltstücke IV und VII in dieser Lösung anders als in den kristallisierten Polymeren voneinander unabhängig sind, fast ausschließlich zu Tetrahydroanabasin und bei längerem Stehen darüber hinaus zu höhermolekularen, noch nicht näher untersuchten Verbindungen, deren Kondensationsprodukte mit *o*-Amino-benzaldehyd keine kristallisierten Pikrate mehr liefern. Besonders bemerkenswert ist, daß in stark saurer

⁴³⁾ P. Duden u. H. Scharff, B. 28, 937 (1895).

wie in stark alkalischer Lösung α -Tripperidein und Isotripperidein bzw. ihre Spaltstücke IV und VII auch beim Erwärmen beständig sind. Δ^1 -Piperidein gibt demnach weder als freie Base noch als Salz die Aldolkondensation. Nur wenn wie im p_H -Bereich 3–11 das Salz und, durch Hydrolyse, die freie Base gleichzeitig vorliegen, tritt offenbar unter dem katalytischen Einfluß des Salzes⁴⁵⁾ die Aldolkondensation zu VII ein.

Die leichte Einstellung eines Gleichgewichts zwischen Δ^1 -Piperidein und Tetrahydroanabasin macht sich oft störend und die tatsächlichen Verhältnisse verschleiern bemerkbar. So erhält man aus α -Tripperidein beim Erhitzen mit Essigsäureanhydrid nicht nur das bereits erwähnte Acetylierungsprodukt des Δ^1 -Piperideins (XVIII), sondern daneben auch in 12proz. Ausbeute die aus Tetrahydroanabasin hervorgehende Diacetylverbindung XXV. Auch bei der Umsetzung von α -Tripperidein mit Phenylsenfö in der Hitze wird ein teilweiser Übergang in Tetrahydroanabasin beobachtet. Während nämlich bei Zimmertemperatur sich ausschließlich das Kondensationsprodukt XVII bildet, entsteht in siedendem Alkohol daneben das dem Tetrahydroanabasin entsprechende Kondensationsprodukt XXIV.

Für die Konstitutionsermittlung der Tripperideine sind wegen der geschilderten Verhältnisse nur solche Reaktionen geeignet, die wie die katalytische Hydrierung und die Kondensation mit *o*-Aminobenzaldehyd bei Zimmertemperatur so rasch und unter so milden Bedingungen verlaufen, daß sie die primären Spaltstücke der Tripperideine quantitativ abfangen, bevor diese Zeit gefunden haben, ineinander überzugehen.

Die Aldolkondensation von IV zu VII ist reversibel. So erklärt es sich, daß bei der Kondensation von Isotripperidein mit *o*-Amino-benzaldehyd bei 100° ausschließlich und in derselben Ausbeute β -(ω -Aminopropyl)-chinolin (XV) als stabiles Endprodukt erhalten wird wie bei der analogen Kondensation des α -Tripperideins. Da Tetrahydroanabasin wegen des Fehlens einer reaktionsfähigen Methylengruppe neben der C=N-Doppelbindung sich nicht zu einem Chinolinderivat kondensieren kann, greift die irreversible Kondensation zu XV ausschließlich an dem mit ihm im Gleichgewicht befindlichen Δ^1 -Piperidein an.

Die Aldolspaltung des Tetrahydroanabasin wird auch beobachtet, wenn man das orangefarbene Dipikrat des Kondensationsproduktes XXIII etwa eine Viertelstunde mit Wasser kocht. Dabei wandelt es sich über die Gleichgewichte mit den Spaltstücken in das rote Pikrat des vom Δ^1 -Piperidein sich ableitenden Kondensationsproduktes X um, zu dessen Gunsten das Gleichgewicht in annähernd neutraler, wässriger Lösung auch bei 100° liegt, wenn man die irreversible, erst bei längerem Kochen eintretende Bildung des Chinolinderivates XV außer Betracht läßt.

Auf die Bedeutung der vorliegenden Arbeit für die Frage der Biogenese einiger Alkaloide wird in einer späteren Abhandlung eingegangen.

Die Untersuchung wurde teilweise mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Hrn. Prof. Dr. O. Bayer, Leverkusen, danken wir für die Überlassung von *o*-Nitro-benzaldehyd.

⁴⁵⁾ Vgl. F. G. Fischer u. A. Marschall, B. 64, 2825 (1931) sowie R. Kuhn, W. Badstübner u. Ch. Grundmann, B. 69, 98 (1936).

Beschreibung der Versuche⁴⁸⁾*N*-Chlor-piperidin (K.)

Beim Zutropfenlassen von verdünnter Piperidinlösung zu siedender Chlorkalklösung nach dem Verfahren von Lellmann und Schwaderer⁷⁾ betrugen die Ausbeuten an *N*-Chlor-piperidin nur 40–45% d. Th.; das Produkt war aber stabil und ließ sich i. Vak. destillieren.

In allen späteren Versuchen wurde das *N*-Chlor-piperidin ohne Anwendung höherer Temperaturen dargestellt, wodurch die Ausbeuten fast quantitativ wurden.

Bei der Darstellung des *N*-Chlor-piperidins durch Einwirkung einer kalten Lösung von überschüss. freier Unterchloriger Säure auf Piperidin betrugen die Ausbeuten 70–75% d. Th., einerlei ob das Piperidin zur fertigen, nach A. Wohl¹⁷⁾ dargestellten Lösung von unterchloriger Säure zutropft wurde, oder ob die unterchlorige Säure durch Einleiten von Chlor in Natriumhydrogencarbonatlösung bei Gegenwart von Piperidin dargestellt wurde. Bei größeren Ansätzen zeigte sich aber, daß die auf diese Weise erhaltenen Präparate von *N*-Chlor-piperidin nicht stabil waren und in allerdings nicht brisanter und ungefährlicher Weise verpufften, sobald sie Zimmertemperatur erreichten¹⁸⁾.

Als beste Darstellungsmethode hat sich schließlich die folgende erwiesen, die eine Verbesserung des von M. Delépine⁴⁹⁾ angegebenen Verfahrens darstellt.

Danach läßt man eine konz. wässr. Lösung von Piperidinacetat zu einer gesättigten, filtrierten und gekühlten Chlorkalklösung bei -5° bis 0° unter heftigem Turbinieren zutropfen. Die Lösung von Piperidinacetat wird bereitet, indem 1 Mol (85 g) über festem Kaliumhydroxyd getrocknetes, frisch destilliertes Piperidin vom Sdp. 106° mit 1 Mol (60 g) ausgefrorenem Eisessig tropfenweise versetzt wird. Wegen der starken Wärmeentwicklung wird mit Kältemischung gekühlt und das Piperidin mit so viel Eis versetzt, daß das Gemisch flüssig bleibt. Die Chlorkalklösung wird zweckmäßig 2–3 Tage vor dem Versuch angesetzt, indem 1 kg Chlorkalk mit 5 l Wasser verrührt und bei Zimmertemperatur 2–3 Tage unter häufigem Umrühren aufbewahrt wird. Nach dem Absetzen wird abgehebert und die Lösung zur völligen Klärung filtriert. Der Gehalt an aktivem Chlor wird jodometrisch bestimmt und so viel von der Chlorkalklösung angewandt, als dem Doppelten der theoretisch nötigen Menge entspricht (etwa 1,5–2,5 l). Läßt man nun zu dieser mit einer Kältemischung gekühlten Chlorkalklösung bei -5° bis 0° im Laufe von 30 Min. unter heftigem Rühren die Piperidinacetatlösung zutropfen, so scheidet sich das *N*-Chlor-piperidin sofort in Form einer milchigen Trübung ab. Man schüttelt anschließend rasch viermal mit je 200 ccm peroxydfreiem Äther aus, wobei man die Ätherauszüge jeweils sofort in einer Kältemischung kühlt, trocknet den Äther $\frac{1}{2}$ Stde. mit geglühtem Natriumsulfat und dampft ihn aus einem 500 ccm Rundkolben im Wasserbad von 50 – 60° ab. Das Ausschütteln dauert etwa 45, das Abdampfen etwa 80 Minuten. Um den öligen Ätherrückstand, aus dem eine geringe Menge Piperidinhydrochlorid auskristallisierte, von den letzten Resten Äther zu befreien, wird über den im Wasserbad auf 60° erhitzten Kolbeninhalt durch ein auf die Oberfläche des Kolbeninhalts reichendes Glasrohr 10 Min. ein trockner Luftstrom gesaugt. Zu langes Überleiten ist zu vermeiden, da sich das *N*-Chlor-piperidin mit dem Luftstrom merklich verflüchtigt. Der Kolbenrückstand (110 – 115 g) wird jodometrisch titriert. Hierzu werden etwa 0,06 g auf der Analysenwaage gewogen, in 10 ccm Eisessig ge-

⁴⁸⁾ Bei den wesentlichsten Versuchen sind die Namen der Mitarbeiter, die sie ausgeführt haben, abgekürzt angegeben.

⁴⁷⁾ B. 40, 94 (1907).

⁴⁸⁾ Vgl. O. Bally, B. 21, 1775 (1888).

⁴⁹⁾ Bull. Soc. Chim. France [3] 19, 614 (1898); C. r. 126, 1795 (1898). Auch Lellmann hatte nach B. 21, 1922 (1888) zuerst kalte Chlorkalklösung verwandt, später dieses Verfahren aber zugunsten der Verwendung von heißer Chlorkalklösung aufgegeben.

löst, die Lösung von 0,5 g Kaliumjodid in 10 ccm Wasser hinzugefügt und nach 5 Min. bei Zimmertemperatur mit $\frac{n}{10}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ titriert. Man kann auch das rohe *N*-Chlor-piperidin durch Absaugen durch ein trockenes Papierfilter ohne Nachwaschen vom ausgeschiedenen Piperidinhydrochlorid befreien. Der Verlust beträgt dabei insgesamt nur 1–2%; der Gehalt des Rohprodukts an Piperidinhydrochlorid ist wegen der unvermeidlichen mechanischen Verluste entsprechend geringer.

So gewonnene Präparate von *N*-Chlor-piperidin waren nach der Titration 90 bis 95proz. Der Rest dürfte Äther gewesen sein, denn bei längerem Überleiten von Luft unter ständigem Umschwenken des Kolbens wurden, allerdings unter Herabminderung der Gesamtausbeute an dem flüchtigen *N*-Chlor-piperidin, Präparate erhalten, die bei der jodometrischen Titration den theoretischen Gehalt an aktivem Chlor zeigten.

$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NCl}$ (119,5) Ber. Cl 29,68 Gef. 29,57.

Die so erzielbare Gesamtausbeute an *N*-Chlor-piperidin schwankt zwischen 82 und 90% d. Th. Sie erreicht fast 100%, wenn man das Abdampfen des Äthers sehr vorsichtig durchführt und etwa 15–20% Äther im Rohprodukt beläßt.

Das nach obiger Vorschrift dargestellte *N*-Chlor-piperidin ist sowohl in Substanz wie in Ätherlösung stabil und läßt sich im schwachen Wasserstrahlvakuum unzersetzt destillieren, wobei es unter 40–50 Torr bei 50–60° übergeht. Das Destillat ist wasserhell, von stechendem, an Piperidin und Chlor erinnerndem Geruch. Die Dämpfe reizen die Schleimhäute der Nase und der Augen stark. Mit Wasserdämpfen ist die Substanz leicht, mit Äthordämpfen etwas flüchtig. Die klare, frisch destillierte Verbindung trübt sich sowohl für sich als auch in Ätherlösung schon nach wenigen Minuten durch ausgeschiedene Nadeln von Piperidinhydrochlorid. Beim Erwärmen über freier Flamme nimmt die Ausscheidungsgeschwindigkeit zu, die Zersetzung verläuft stoßweise, ohne jedoch zur Explosion zu führen. Die Konsistenz wird dabei breiartig, die Flüssigkeit, in der die Nadeln von Piperidinhydrochlorid eingebettet sind, färbt sich dunkel und schließlich schwarz.

Auch in Lösungsmitteln wie Toluol, Dimethylanilin und Pyridin verläuft die Selbstzersetzung ähnlich, jedoch langsamer. Die dem Piperidinhydrochlorid entsprechenden Dehydrierungsprodukte stellen ein sprödes, schwarzes Harz dar.

Für die Weiterverarbeitung auf Piperidin wurde immer nicht destilliertes, höchstens durch Absaugen gereinigtes *N*-Chlor-piperidin verwandt, dessen Gehalt jeweils jodometrisch bestimmt worden war.

Chlorwasserstoff-Abspaltung aus *N*-Chlor-piperidin (K.; Br.)

Die Chlorwasserstoff-Abspaltung aus *N*-Chlor-piperidin wurde sofort nach dessen Herstellung mit 10proz. alkohol. Kalilauge durchgeführt. Es wurden 10% mehr Alkali angewandt, als für die Abspaltung des durch Titration gefundenen aktiven Chlors nötig wäre. Zum Beispiel wurden 113 g 94,6proz. *N*-Chlor-piperidin innerhalb von 5 Min. zu 550 g einer siedenden 10proz. Lösung von Kaliumhydroxyd in 96proz. Alkohol zugetropft, wobei sich sofort unter Gelb-, später Rötlichgelb-Färbung Kaliumchlorid abschied und die alkohol. Lösung ohne äußere Wärmezufuhr in heftigem Sieden blieb. Danach wurde noch 10 Min. auf dem Wasserbad gekocht, auf etwa 40° abgekühlt, vom ausgeschiedenen Kaliumchlorid abgesaugt und der Alkohol bei 40–50° im Laufe von 2 Stdn. im schwachen Wasserstrahlvakuum von anfangs 50–100 Torr soweit wie möglich abdestilliert⁵⁰⁾. Der Rückstand wurde mit 500 ccm

⁵⁰⁾ Mit dem Alkohol geht Piperidin und z. T. auch Piperidin über. Wurde in den abdestillierten Alkohol gasförmige Salzsäure eingeleitet, der Alkohol i. Vak. abgedampft und der Rückstand aus 96proz. Alkohol umkristallisiert, so erhielt man 3,5 g unreines, bei 220–230° (Sintern ab 205°) schmelzendes Piperidinhydrochlorid und durch völliges Eindampfen der Mutterlauge weitere 8,0 g einer sehr unscharf zwischen 140° und 215° (Sintern ab 125°) schmelzenden Kristallmasse, die Piperidinhydrochlorid enthält. Die Gesamtausbeute an Hydrochloriden entsprach 10,7% des

alkalisch gemachtem Wasser versetzt, in dem das vorher abgesaugte Kaliumchlorid gelöst worden war, und das ungelöste braune Öl viermal mit je 200 ccm peroxydfreiem Äther ausgeschüttelt. Die äther. Lösung wurde mit Natriumsulfat oder Kaliumhydroxyd über Nacht getrocknet, der Äther aus einem Wasserbad von 50 bis 60° im Laufe von etwa 1 Stde. abdestilliert, schließlich der Kolben auf Wasserstrahlvakuum evakuiert und 15 Min. auf 80° erhitzt, um letzte Reste Piperidin zu entfernen⁵¹). Der Rückstand (57 g = 77% d. Th.) kristallisierte beim Stehen bei Zimmertemperatur im Laufe von 2 Stdn.; Roh-Schmp. 48–58°. Das Produkt wurde mit 30 ccm eiskühlem Aceton angerieben, abgesaugt und mit insgesamt 20 ccm kaltem Aceton nachgewaschen, wodurch 47 g α -Tripperidein (64% d. Th.) vom Schmp. 54–59° erhalten wurden, die nach dem Umkristallisieren aus 45 ccm Aceton bei 59–61°, nach nochmaligem Umkristallisieren konstant bei 61–62° schmolzen.

In das zum Anreiben verwandte Aceton ging ein nicht kristallisierender Anteil, der nach dem Ergebnis der Kondensation mit *o*-Amino-benzaldehyd (Br.) zu 67% d. Th. noch aus α -Tripperidein bestand. Der Rest, 4,5% der Gesamtausbeute, kondensierte sich nicht mit *o*-Amino-benzaldehyd und gab auch kein kristallisiertes Pikrat. Über die Natur dieses Anteils läßt sich daher nur aussagen, daß er offenbar keine C=N-Doppelbindung enthält.

α -Tripperidein (K)

α -Tripperidein läßt sich aus Aceton oder auch aus Äther, in dem es leichter löslich ist, umkristallisieren. Besonders große Kristalle, wasserklare, sechsseitige Prismen, die praktisch geruchlos sind, erhält man, wenn man eine heiß gesättigte Ätherlösung längere Zeit bei Zimmertemperatur stehen läßt. Die reine Substanz schmilzt scharf bei 61 bis 62°. Sie löst sich in Benzol und in anderen hydroxylfreien Lösungsmitteln ohne Veränderung und kommt nach dem Abdampfen des Benzols im Vakuum-Exsiccator unverändert wieder heraus⁵²). Sie ist auch nur schwer flüchtig; in 5 Tagen trat im auf Wasserstrahlvakuum ausgepumpten Exsiccator nur eine Gewichtsabnahme von 0,5 Prozent ein. Das Molekulargewicht wurde kryoskopisch in thiophenfreiem, über Natrium destilliertem Benzol unter sorgfältigem Feuchtigkeitsausschluß bestimmt.

$C_{15}H_{27}N_3$ (249,4)	Ber. C 72,24	H 10,91	N 16,85	Mol.-Gew. 249
	Gef. „ 72,36	„ 10,91	„ 16,79	„ 247, 238, 271, 250.

α -Tripperidein entwickelte in Anisol, das zweimal über Natrium und einmal über Phosphorpentoxyd destilliert worden war, mit Methylmagnesiumjodid in Isoamyläther (Merek) in der Kälte kein Methan. Beim Erhitzen auf 100° trat langsam Methanentwicklung ein, die im

eingesetzten *N*-Chlor-piperidins. Wurde das Hydrochlorid aus der Mutterlauge mit 50proz. Kalilauge zerlegt (Br.), die Base ausgeäthert und das darin enthaltene Piperidin i. Vak. abdestilliert, so gab der bei 100° Badtemperatur unter 125 Torr nicht mehr übergehende Rückstand beim Anreiben mit tiefgekühltem Aceton 2,8 g kristallisiertes *Isotripperidein* vom Schmp. 92–95° (Mischprobe).

⁵¹) Dabei geht anscheinend auch etwas monomolekulares Piperidein mit über.

⁵²) Daß Lellmann und Schwaderer die Base aus Benzol und anderen Lösungsmitteln nur als „ein erst allmählich erstarrendes Öl“ zurückgewinnen konnten (B. 22, 1322 [1889]), ist vielleicht so zu erklären, daß sie das Benzol auf dem Wasserbad abdampften und so den Rückstand überhitzten.

Laufe von 1 Stde. etwa 1 Mol erreichte, nach 4 Stdn., nach der Entwicklung von 1,5 Mol Methan, aber immer noch nicht beendet war. In wässr. Lösung läßt sich α -Tripperidein mit 1*n* HCl mit Methylrot als Indicator scharf als dreisäurige Base titrieren. Bei der Destillation einer kleinen Menge der reinen Base bei 0,1 Torr aus einem Ölbad, dessen Temperatur bei Beginn der Destillation 100° betrug und schließlich auf 200° gesteigert wurde, stieg die Temperatur der Dämpfe stetig von 60—140°, ohne daß ein Haltepunkt festzustellen war. Das farblose Destillat erstarrte innerhalb weniger Minuten zu unverändert bei 61—62° schmelzenden Kristallen.

In saurer Lösung tritt rasch Zerfall ein. Als 0,25 g der Base in 6,0 ccm 1*n*-HCl, also dem Doppelten der theoretisch nötigen Menge in der Kälte gelöst wurden, die Lösung nach 6 Min. Stehenlassen bei Zimmertemperatur mit 50proz. Natronlauge wieder alkalisch gemacht und die stark piperidinartig riechende Emulsion ausgeäthert wurde, erstarrte der Ätherrückstand nur äußerst langsam im Laufe von 2 Monaten zu Kristallen, die nach dem Abpressen auf Ton unscharf bei 52—56° (Sintern ab 45°) schmolzen.

Versuche, das Hydrochlorid oder Hydrobromid durch Fällen der äther. Lösung der Base mit äther. Chlor- oder Bromwasserstoffsäure darzustellen, führten nur zu amorphen, äußerst hygroskopischen Salzen, die ebensowenig wie das Pikrat und Pikrolonat kristallisiert erhalten werden könnten. Bei der Einwirkung von Methyljodid entstand ein amorphes, in Äther unlösliches, mit Aceton sofort zerfließendes Umsetzungsprodukt, das ebensowenig wie sein Pikrat kristallisiert erhalten werden konnte.

Von allen Salzen scheint nur das *Reineckat* einigermaßen zur Identifizierung geeignet zu sein. Zu seiner Darstellung wurde die Lösung von 0,25 g α -Tripperidein in 3,0 ccm 1*n*-HCl mit der wässr. Lösung von 1,06 g Reineckesalz versetzt. Das ausfallende *Reineckat* (1,02 g) schmolz als Rohprodukt bei 211—213° unter Zersetzung. Das gleiche Salz wurde erhalten, als 0,25 g Base in absol. Äther mit der äther. Lösung von Reineckesäure gefällt wurden, die durch Zerlegen von 2,0 g Reineckesalz mit 20 ccm 2*n*-HCl, zweimaliges Ausschütteln mit je 30 ccm Äther und Trocknen mit Natriumsulfat erhalten worden war. Es fielen 1,20 g *Reineckat* vom Schmp. 211 bis 213° aus, was der Ausbeute entspricht, die zu erwarten ist, wenn in dem Salz 1 Mol Reineckesäure auf 1 Stickstoffatom trifft. Der Zersetzungspunkt änderte sich beim Umkristallisieren aus Aceton + Wasser oder Aceton + Äther nicht mehr.

Mit ammoniakalischer Silbernitratlösung gibt α -Tripperidein Silberabscheidung.

Katalytische Hydrierung des α -Tripperideins (K)

1. In *Methanol*: 0,15 g Platinoxid wurden in 5 ccm über Calciumoxyd dest. Methanol vorreduziert, dann 1,00 g α -Tripperidein in 20 ccm gereinigtem Methanol zugegeben und unter Wasserstoff geschüttelt. Die Wasserstoffaufnahme war nach 12 Stdn. beendet und betrug 1% mehr als die für eine Doppelbindung auf jedes Stickstoffatom berechnete Menge. Nach dem Abfiltrieren vom Platin und Ansäuern mit Salzsäure wurde i. Vak. zur Trockne verdampft. Der Rückstand, 1,38 g (95% d. Th.) schmolz roh bei 234°, nach einmaligem Umkristallisieren aus Alkohol konstant bei 241—242° und gab mit Piperidinhydrochlorid keine Schmp.-Erniedrigung.

2. In *salzsaurer Lösung*: 2,00 g α -Tripperidein wurden mit 20 ccm Wasser versetzt, in der Kälte mit 24,1 ccm 1*n* HCl gegen Methylrot

neutralisiert und die Lösung sofort mit 0,4 g Platinoxid unter Wasserstoff geschüttelt. Die Wasserstoffaufnahme kam nach 70 Min. zum Stillstand; sie betrug 97% der für eine Doppelbindung auf 1 Stickstoffatom berechneten Menge. Die vom Platin abfiltrierte Lösung ergab nach dem Abdampfen i. Vak. 2,81 g Piperidinhydrochlorid, das roh bei 234—237°, nach dem Umkristallisieren aus Alkohol bei 240° schmolz und mit einem Vergleichspräparat keine Schmp.-Erniedrigung gab.

Die wässr. Lösung der *Ba-e* läßt sich mit Platinoxid nur äußerst langsam hydrieren; nach 3 Tagen waren erst 80% der theoret. Menge Wasserstoff aufgenommen.

Die Kondensation von α -Tripiperidein mit *o*-Amino-benzaldehyd (K, Br.)

1. Bei 25°⁵³); *Pikrat des 2,3-Tetramethylen-1,2-dihydro-chinazolinium-hydroxyds* (Xa): 1,250 g *o*-Amino-benzaldehyd⁵⁴) wurden in 640 ccm aus 14,0 g Citronensäure und 5,40 g Natriumhydroxyd dargestelltem Citratpuffer vom p_H 4,6—4,8 bei 40° unter heftigem Umschwenken gelöst, und die Lösung rasch in Eis auf 25—30° abgekühlt. Hierzu wurde sofort die durch Zugabe von 10 ccm 1*n* HCl zu 0,830 g fein gepulvertem α -Tripiperidein frisch bereitete Lösung gegeben. Unmittelbar nach dem Zusammengeben der Komponenten trat ein Farbumschlag nach orangerot ein. Die Farbe, die der einer Bichromatlösung gleich, vertiefte sich im Laufe von einigen Stunden noch um ein Geringes⁵⁵). Nach 24-stdg. Stehenlassen⁵⁶) im Thermostaten bei 25°, wobei das p_H unverändert geblieben war, wurde von einer Spur eines flockigen Niederschlags abgesaugt und unter heftigem Turbinieren nach und nach mit 2,80 g feinst gepulverter Pikrinsäure versetzt. Es fiel sofort das zinnoberröte *Pikrat des Kondensationsproduktes* Xa aus. Die Lösung blieb samt dem Niederschlag noch 1—2 Tage bei Zimmertemperatur, und darauf 7—9 Stdn. in Eis stehen; dann wurde abgesaugt und im Exsiccator getrocknet. Ausbeute 4,115 g Pikrat (ber. 4,150 g) entspr. 99% d. Th.; wird nicht mit Eis gekühlt, so werden nur etwa 95% d. Th. erhalten⁵⁷). Der Schmelzpunkt des Rohprodukts liegt bei 166—170° (Sintern ab 164°). Er schwankte bei verschiedenen Ansätzen ein wenig, lag aber immer zwischen 165° und 172°.

⁵³) Bei 30° wurde dasselbe Ergebnis erhalten.

⁵⁴) Dargestellt nach E. Bamberger u. E. Demuth, B. 34, 1329 (1901); vgl. B. 60, 319. (1927).

⁵⁵) Über den colorimetrischen Vergleich dieser Lösung mit der analog aus Iso-tripiperidein dargestellten vgl. dort.

⁵⁶) Bei kürzerem, 8- oder 11-stdg. Stehenlassen wird eine etwas schlechtere Ausbeute von 96% d. Th. erhalten.

⁵⁷) Beim langen Stehenlassen einer solchen Kondensationsmutterlauge kristallisierten nach etwa 14 Tagen noch etwa 0,1 g bräunlichgelbes Pikrat des β - ω -Aminopropyl-chinolins (XV) vom Rohschmp. 215—217° (Mischprobe mit Kontrollpräparat).

Das Rohprodukt besteht aus zwei Kristallmodifikationen, deren Trennung z. B. folgendermaßen gelang (Br.):

3,86 g rohes Pikrat aus der beschriebenen Kondensation vom Rohschmp. 165 bis 170° wurden in 230 ccm siedendes Methanol eingetragen und 5 Min. unter Rückfluß gekocht. Es wurde heiß abgesaugt und mit 10 ccm heißem Methanol nachgewaschen. Auf dem Filter blieben 0,25 g Pikrat von Xa vom Schmp. 170—172° (Sintern ab 167°) zurück, das einheitlich aus *Kristallkörnern* von würfelförmlichem Aussehen bestand. 0,72 g dieses Pikrats wurden in 64 ccm siedendes Methanol eingetragen und das Ganze 5 Min. unter Rückfluß gekocht. Beim langsamen Abkühlen zunächst mit Wasser und erst gegen Ende der Kristallisation in Eis wurden 0,61 g Pikrat vom konstanten Schmp. 173—175° in einheitlichen *Kristallkörnern* von würfelförmlichem Aussehen erhalten. Beim Eintragen der ungelulverten Substanz in siedendes Methanol gingen nach 5 Min. Kochen 1,13—1,16 g/100 ccm absol. Methanol in Lösung.

Aus dem Filtrat der Methanol-Kochung wurde durch rasches Kühlen in einer Kältemischung 3,16 g Pikrat von Xa vom Schmp. 167—170° (Sintern ab 165°) erhalten, das einheitlich in rautenförmigen *Blättchen* kristallisierte. 0,82 g dieser Modifikation wurden zu 50 ccm siedendem, wasserfreiem Methanol gegeben und das Ganze 4 Min. unter Rückfluß gekocht. Beim raschen Abkühlen in einer Kältemischung wurden 0,67 g Pikrat vom konstanten Schmp. 171—172° erhalten, das einheitlich in *Blättchen* von rautenförmigen Umriß kristallisiert war. Beim Eintragen der ungelulverten Blättchen in siedendes, wasserfreies Methanol gingen nach 5 Min. Kochen unter Rückfluß 1,65 g/100 ccm in Lösung; die Blättchen lösen sich also rascher als die körnigen Kristalle. Die Blättchen sind dunkler rot als die körnigen Kristalle, ein Unterschied, der auch nach dem Pulvern der Substanz erhalten bleibt.

Die so erhaltenen, im Aussehen verschiedenen Kristalle gaben verschiedene Debye-Scherrer-Diagramme. Sie enthalten beide kein Kristalllösungsmittel und geben übereinstimmende Analysenwerte.

$C_{18}H_{17}O_7N_5$ (415,4)	Ber. C 52,03	H 4,13	O 26,97	N 16,87	
	Gef. „ 52,42	„ 4,19	„ 26,9 ⁵⁸⁾	„ 16,95	(körnige Kristalle aus Methanol)
	„ „ 52,40	„ 4,16	„ 26,8 ⁵⁸⁾	„ 16,88	(Blättchen aus Methanol).

Beide Modifikationen lassen sich durch Kristallisation aus Eisessig oder Methanol leicht ineinander überführen, wobei bei raschem Abkühlen einer heiß gesättigten Lösung immer die Blättchen, beim langsamen Abkühlen einer zweckmäßig verdünnten Lösung immer die körnigen Kristalle erhalten wurden. Die Blättchen, die auch aus Eisessig frei von Kristalllösungsmittel kommen, schmelzen aus Eisessig konstant bei 168—169°, aus Methanol umkristallisiert anscheinend eine Spur höher bei 171 bis 172°. Die körnigen Kristalle schmelzen aus Eisessig konstant bei 172—173°, aus Methanol umkristallisiert etwa 1—2° höher bei 173—175°. Diese Unterschiede wurden auch bei der Schmp.-Bestimmung der Substanzen nebeneinander am gleichen Thermometer beobachtet, ebenso wie die Unterschiede im Schmp. der körnigen und blättchenförmigen Kristalle.

Für die Abtrennung des roten Pikrats von schwerer löslichen Verbindungen⁵⁹⁾ muß, da man nicht weiß, ob ein Rohpikrat im wesentlichen aus Körnern oder Blättchen besteht, immer so viel siedendes Methanol verwandt werden, daß bei 5 Min. langem Kochen das Pikrat von Xa auch dann voll in Lösung gehen würde, wenn es ausschließlich in Form der körnigen Modifikation vorliegt. Ein längeres Kochen der Methanollösung muß wegen der Gefahr der Rückspaltung des Pikrats in seine Komponenten und des irreversiblen Übergangs in das Pikrat von XV vermieden werden.

⁵⁸⁾ Für die Durchführung der O-Bestimmungen sind wir Hrn. Prof. R. Kuhn, Heidelberg, zu Dank verpflichtet.

⁵⁹⁾ Vgl. S. 37.

In Aceton ist das Pikrat von Xa leichter löslich als in Methanol; 1 g geht bei 4 Min. langem Kochen mit 46 ccm siedendem Aceton in Lösung.

Zur Überführung in 2,3-Tetramethylen-chinazon-(4) (XI) wurden 2,0 g Pikrat des Kondensationsprodukts Xa in 25 ccm Eisessig heiß gelöst und dazu im siedenden Wasserbad innerhalb 10 Min. unter Schütteln die Lösung von 1,45 g Chromtrioxyd in 3 ccm Wasser und 5 ccm Eisessig zugetropft. Anschließend wurde noch 2 Std. auf 80° erwärmt, i. Vak. zur Trockne verdampft, der Rückstand mit wenig Wasser angerieben und durch Absaugen 1,5 g (72% d. Th.) Pikrat des 2,3-Tetramethylen-chinazolons-(4) erhalten, das als Rohprodukt bei 182°, nach dem Umkristallisieren aus Eisessig konstant bei 184—186° schmolz.

$C_{18}H_{15}O_5N_5$ (429,3) Ber. C 50,35 H 3,52 N 16,31
Gef. „ 50,13 „ 3,69 „ 16,40.

Die aus dem Pikrat mit Natronlauge in Freiheit gesetzte und durch Äusäthern gewonnene Base schmolz roh bei 88—91°, nach dreimaligem Umkristallisieren aus Äther bei 99—100° (Lit.: 99—100°) und gab mit einem nach E. Späth und N. Platzer⁷⁾ dargestellten Vergleichspräparat keine Schmp.-Erniedrigung. Auch die Pikrate waren identisch.

2. Bei 100°; β -[ω -Amino-propyl]-chinolin (XV): Der Versuch wurde wie der bei 25° durchgeführte in Pufferlösung von p_H 4,6 angesetzt, nur wurden die Lösungen des α -Amino-benzaldehyds in Citratpuffer einerseits, die des α -Tripiperideins in der berechneten Menge Salzsäure andererseits vor dem Zusammengeben jeweils auf 100° erhitzt. Beim Vermischen trat zunächst derselbe bichromatrote Farbton auf wie bei den Versuchen bei 25°; beim 6stdg. Erwärmen des Ansatzes im siedenden Wasserbad schlug aber die Farbe allmählich nach bräunlichgelb um. Wurde nun mit 8,0 g Pikrinsäure versetzt, so kristallisierte beim Abkühlen in guter Ausbeute ein gelbes, bei 202—205° schmelzendes Pikrat aus, das nach dem Umkristallisieren aus 40proz. Ameisensäure große viereckige Platten vom konstanten Schmp. 216—217° bildete.

$C_{12}H_{14}N_2 + 2 C_6H_5O_7N_3$ (644,5) Ber. C 44,73 H 3,13 N 17,39
Gef. „ 45,02 „ 3,06 „ 17,10.

Das aus dem Pikrat in üblicher Weise hergestellte Hydrochlorid schmolz nach dem Umkristallisieren aus absol. Alkohol unter Zusatz von Äther konstant bei 230° (Zers.; Sintern ab 225°).

$C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2 HCl$ (259,2) Ber. C 55,61 H 6,22 N 10,81
Gef. „ 55,73 „ 6,24 „ 10,53.

Die Bestimmung des Aminostickstoffs nach van Slyke⁸⁰⁾, bei der zur vollständigen Beendigung der Reaktion einstündiges Schütteln erforderlich war, ergab, daß nur eines der beiden Stickstoffatome in Form einer primären Aminogruppe vorliegt (Bo.).

$C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2 HCl$ (259,2) Ber. für 1 Amino-N 5,41; gef. 5,19, 5,41.

Zur Darstellung der Benzoylverbindung (Bu.) wurden 0,52 g des Dihydrochlorids der Base in einem 100 ccm-Kolben mit der Lösung von 0,4 g Natriumhydroxyd in wenig Wasser übergossen, etwa 70 ccm Äther zugesetzt, der beim Umschütteln die als milchige Trübung ausgeschiedene Base aufnahm, und zu dem Ganzen unter dauerndem Umschütteln 0,56 g Benzoylchlorid getropft, wobei sich bald ein Teil der in Äther schwer löslichen Benzoylverbindung in öligen Tropfen ausschied. Nach dem Stehen über Nacht wurde durch Zusatz von 25 ccm Chloroform die ausgeschiedene Benzoylverbindung gelöst, die Äther-Chloroform-Schicht abgetrennt, mit Alkali und Wasser gewaschen und mit 25 ccm 20proz. Überchlorsäure versetzt, wobei das in Äther unlösliche, in Wasser sehr schwer lösliche Perchlorat der Benzoylverbindung in praktisch quantitativer Ausbeute mit dem Rohschmp. 205—208° auskristalli-

⁸⁰⁾ Es wurden die in Kleins Handbuch der Pflanzenanalyse Bd. I, S. 234 beschriebene Apparatur verwandt.

sierte. Aus Wasser (eine Spur einer Verunreinigung blieb ungelöst) wurden farblose, kleine Nadeln vom konstanten Schmp. 207—208° erhalten.

$C_{19}H_{18}ON_2$, $HClO_4$ (390,6) Ber. C 58,37 H 4,91
Gef. „ 58,42 „ 5,06.

Der oxydative Abbau zur Chinolin- β -carbonsäure (Bo.) wurde in der Weise durchgeführt, daß 0,8 g der aus der wässr. Lösung des Dihydrochlorids mit Alkali in Freiheit gesetzten und durch Ausäthern gewonnene Base⁶¹⁾ mit der Lösung von 5,0 g Chromtrioxyd in 40 g 50proz. Schwefelsäure 7 Stdn. unter Rückfluß gekocht wurden, wonach das Chromtrioxyd völlig verbraucht war. Die Aufarbeitung erfolgte nach der früher für die Isolierung der 2-Methyl-chinolin-carbonsäure-(3) gegebenen Vorschrift⁶²⁾. Beim Anreiben des alkohollöslichen Anteils mit wenig Wasser blieben 0,12 g einer farblosen Substanz zurück, die als Rohprodukt bei 270° schmolz und den Schmp. durch Umkristallisieren aus Wasser unter Zusatz von wenig Tierkohle nicht mehr änderte.

$C_{10}H_7O_2N$ (173,2) Ber. C 69,34 H 4,08
Gef. „ 68,95 „ 3,97.

Die Säure gab mit einem durch Decarboxylierung von Acridinsäure, die ihrerseits aus o-Amino-benzaldehyd und Oxalessigester nach den Angaben der Literatur dargestellt worden war, erhaltenen, bei 275° schmelzenden Vergleichspräparat keine Schmp.-Depression. Das in alkohol. Lösung aus den Komponenten dargestellte Pikrat schmolz unscharf bei 207—219° (Zers.) und gab mit einem bei 212—219° unter Zers. schmelzenden Vergleichspräparat gleichfalls keine Schmp.-Erniedrigung.

3. Pikrat des β -[ω -Aminopropyl]-chinolins (XV) aus 2,3-Tetramethylen-1,2-dihydro-chinazolinium-pikrat (Xa; Br.). 2,0 g rotes Pikrat des 2,3-Tetramethylen-1,2-dihydro-chinazolinium-hydroxyds (Xa) wurden in 15 ccm Eisessig 30 Min. am Rückfluß gekocht, wobei sich die rote Farbe aufhellte und schon in der Hitze sich bräunlichgelbe Kristalle abschieden. Sie wurden nach dem Erkalten abgesaugt (1,55 g vom Rohschmp. 215—217°, Sintern ab 213°) und mit wenig heißem Eisessig nachgewaschen. Aus dem Filtrat kristallisierten nach Zugabe von 1,1 g fein gepulverter Pikrinsäure weitere 0,85 g vom Rohschmp. 208—211° (Sintern ab 207°). Aus der Mutterlauge kamen nach zweitägigem Stehen 0,2 g rote Kristalle des Ausgangsmaterials vom Rohschmp. 165—167° (Mischprobe). Insgesamt waren 2,4 g Pikrat des β -[ω -Aminopropyl]-chinolins (XV) (77% d. Th.) entstanden, die durch Mischprobe identifiziert wurden.

Die Einwirkung von Phenylsenföl auf α -Tripperidein (K.)

1. Bei Zimmertemperatur²⁴⁾: 1,0 g α -Tripperidein wurde in 12 ccm absol. Alkohol mit 0,85 g Phenylsenföl bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach 3 Stdn. traten am Boden des Gefäßes Kristallwarzen auf, nach 4 Tagen war der Geruch nach Phenylsenföl verschwunden. Durch Absaugen wurden 1,32 g (73% d. Th.) Kristalle vom Schmp. 142—143° erhalten. Aus Alkohol seidenglänzende, lange Nadeln vom konstanten Schmp. 143—145° (Lit.: 143—144°).

$C_{17}H_{20}N_3S$ (301,4) Ber. C 67,73 H 7,69 N 13,94 S 10,64 Mol.-Gew. 301
Gef. „ 68,05 „ 7,66 „ 14,42 „ 10,23 „ „ 263, 257.

(kryoskop. in Phenol).

Nach Rast läßt sich das Mol.-Gew. nicht bestimmen, da beim Schmelzen mit Campher Zersetzung unter Braunfärbung eintritt.

2. In siedendem Alkohol: Die Lösung von 2,00 g α -Tripperidein in 10 ccm absol. Alkohol wurde mit der Lösung von 4,0 g Phenylsenföl in 10 ccm absol. Al-

⁶¹⁾ Die Base ist äußerst kohlenensäureempfindlich. Der Äther trübt sich daher schon beim Ausschütteln der Base, und die nach dem Abdestillieren zurückbleibende ölige Base ist durch Carbonat verunreinigt.

⁶²⁾ A. 497, 20 (1932).

kohol versetzt und 6 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Während des Kochens und auch nach dem Abkühlen blieb die Lösung zunächst klar. Erst beim Versetzen mit absol. Äther schieden sich Kristalle aus (0,83 g vom Rohschmp. 192—198° unter Braunfärbung). In heißem Eisessig und Nitrobenzol leicht, in Alkohol schwer löslich. Aus viel Alkohol winzige Prismen, die konstant bei 198—200° unter Gelbfärbung schmolzen. Das Mol.-Gew. wurde kryoskopisch in Phenol bestimmt. Nach der Bestimmung wurde das Phenol durch Äther herausgelöst und der Rückstand mit Äther und heißem Methanol gewaschen. Er schmolz dann nach dem Trocknen unverändert bei 198—200° (Mischprobe). Bei der Mol.-Gew.-Bestimmung nach Rast in Campher wurde das scheinbare Mol.-Gew. 210 gefunden. Das schmelzende Gemisch war stark braun gefärbt, was auf Zersetzung des Umsetzungsprodukts schließen läßt.

$C_{24}H_{28}N_4S_2$ (436,6) Ber. C 66,02 H 6,46 N 12,83 S 14,67 Mol.-Gew. 437
Gef. „ 65,75 „ 6,69 „ 12,61 „ 14,76 „ „ 388, 390.

Aus der ursprünglichen alkohol. Mutterlauge schieden sich beim Aufbewahren in der Kälte seidenglänzende Nadeln (1,41 g) aus, die nach dem Absaugen und Trocknen bei 143—145° schmolzen und in Mischung mit den nach 1. erhaltenen Kristallen keine Schmp.-Erniedrigung gaben.

Die Mutterlauge wurde eingedunstet und der halbste Rückstand auf Ton gestrichen, auf dem 2,5 g einer amorphen Substanz zurückblieben. Beim Anreiben mit absol. Alkohol oder Aceton ging alles bis auf ein wenig Harz in Lösung. Beim Eindunsten der Lösung schieden sich nur noch Spuren an Nadeln vom Schmp. 138 bis 143° aus. Die Gesamtausbeute an kristallisierten Reaktionsprodukten entsprach 55% des eingesetzten Piperideins.

Acetylierung des α -Tripiperideins²⁷; *N*-Acetyl- Δ^2 -piperidein (XVIII; K.)

4,0 g *α -Tripiperidein* wurden mit 12,0 g Essigsäureanhydrid 1 Stde. im siedenden Wasserbad erhitzt. Dann wurde im-Wasserstrahlvakuum bei 100° abdestilliert und der Rückstand (5,8 g = 97% d. Th.), ein gelbliches, leicht flüssiges Öl im Hochvakuum destilliert. Dabei gingen bei 56—59°/0,6 Torr 4,7 g (81% d. Th.) eines leicht flüssigen, farblosen, in Wasser leicht und mit neutraler Reaktion löslichen Öls von angenehmem, an Acetophenon erinnerndem Geruch über (XVIII).

$C_9H_{11}ON$ (126,2) Ber. N 11,19 Gef. N 10,06.

Zur Identifizierung wurden 0,50 g des Öls in 15 ccm absol. Alkohol mit 0,15 g vorreduziertem Platinosyd hydriert. In 5 Min. wurden 100% der für *N*-Acetyl- Δ^2 -piperidein berechneten Menge Wasserstoff aufgenommen; die Wasserstoffaufnahme kam zum Stillstand. Es wurde vom Katalysator abfiltriert, der Alkohol abgedampft und der Rückstand 2 Stdn. mit 20proz. Salzsäure unter Rückfluß gekocht. Dann wurde wieder i. Vak. zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand (0,44 g = 87% d. Th.) schmolz roh bei 235—239°, nach einmaligem Umkristallisieren aus Alkohol unter Zusatz von Äther konstant bei 242° und gab in Mischung mit Piperidinhydrochlorid keine Schmp.-Erniedrigung.

In Chloroformlösung wird von dem *N*-Acetyl- Δ^2 -piperidein die berechnete Menge Brom bei Zimmertemperatur augenblicklich entfärbt. Dann tritt die Entfärbung nur allmählich ein. Aus der Lösung konnten als Rohprodukt bei 95—97° schmelzende Kristalle erhalten werden, die noch nicht näher untersucht sind.

Der über 60° übergehende Rückstand (1,1 g) wurde im Kugelrohr destilliert, wobei er bei 0,06 Torr und 180—210° Badtemperatur fast vollständig als hochviscöses, gelbstichiges, fast geruchloses Öl übergang, das leicht und mit neutraler Reaktion in Wasser löslich ist. Es ist identisch mit der aus Isotripiperidein als Hauptprodukt erhaltenen Verbindung (vgl. dort).

Die Umsetzung von Phenyl-diazoniumchlorid mit α -Triperidein (J.)

2,49 g α -Triperidein wurden in 15 ccm 2*n*-HCl durch 3 Min. langes Erwärmen auf 50° gelöst, die Lösung auf 0° abgekühlt und hierzu eine aus 2,79 g Anilin + 6 ccm konz. Salzsäure in 40 g Wasser bzw. Eis bereitete Phenyl-diazoniumsalzlösung zutropft. Die blaßgelbe Lösung wurde dann zu einer auf 0–5° gehaltenen Lösung von 16,4 g Natriumacetat und 1,8 g Eisessig in 40 ccm Wasser vom p_H 5 gegeben. Anschließend wurde 8 bis 10mal mit insgesamt etwa 3 l Äther in der Weise ausgeschüttelt, daß beim jedesmaligen Ausschütteln durch Zusatz von wenigen Tropfen Eisessig das p_H der wässr. Schicht dauernd auf 5–6 gehalten wurde (Kontrolle mit Indikatorpapier Merck). Dabei ging ein rotes, nicht kristallisierendes Öl in den Äther, das nach dem Ausschütteln des Äthers mit 2*n*-Na₂CO₃ Trocknen mit Natriumsulfat und Abdampfen in einer Ausbeute von 1,6 g (29% d. Th.) zurückblieb. Die gelbe, wässr. Lösung wurde mit 2*n*-NaOH alkalisch gemacht, wobei ein gelbes, rasch kristallisierendes Öl ausfiel. Die Kristalle wurden durch Ausschütteln mit 2 l Äther, Trocknen mit Natriumsulfat und Abdampfen in einer Ausbeute von 3,9 g (70% d. Th.) gewonnen. Das bei 165–168° schmelzende Rohprodukt wurde durch Anreiben mit wenig absol. Äther und Absaugen völlig rein mit dem Schmp. 174–176° erhalten. Es läßt sich aus Aceton umkristallisieren und ist dann praktisch farblos. Durch 24stdg. Stehenlassen mit konz. Salzsäure oder durch 3 Min. langes Kochen damit, wird die Substanz XX nicht verändert. Das Mol.-Gew. wurde nach Rast bestimmt, nachdem Phenyl Diazopiperidid den richtigen Wert gegeben hatte.

C₁₁H₁₃N₃ (187,2) Ber. C 70,59 H 6,95 N 22,46 Mol.-Gew. 187
Gef. „ 70,34 „ 6,95 „ 22,07 „ „ 186, 191.

Bei Reduktionsversuchen unter den verschiedensten Bedingungen konnten nur Ammoniak und Anilin nachgewiesen werden. Cadaverin oder bei der reduzierenden Acetylierung die Diacetylverbindung des α -Amino-piperidins konnten nicht aufgefunden werden.

Beim Versuch der Kupplung in Pyridinlösung⁶³) wurde ein rotes, sehr zersetzliches Öl erhalten, das auf keine Weise zur Kristallisation zu bringen war.

Versuche zur Darstellung von *N*-Chlor- Δ^2 -piperidein und 5,6-Dihydropyridin (Br.)

Läst man eine Mischung von 5,0 g α -Triperidein, 3,6 g Eisessig und 30 ccm Wasser unter den für die Darstellung des *N*-Chlorpiperidins angegebenen Bedingungen zu einer Chlorkalklösung (50proz. Überschuß) zutropfen, so tritt sofort die Abscheidung eines gelblichweißen, käsigen, bald schmierig werdenden und dann explodierenden Niederschlags ein. Beim Versuch, die Substanz rasch in Äther aufzunehmen, trat eine verhältnismäßig heftige Verpuffung ein. Es wurde daher in weiteren Versuchen die entstandene Verbindung, die das *N*-Chlor- Δ^2 -piperidein sein dürfte, schon bei ihrer Bildung in einer Mischung von 60 ccm thiophenfreiem Benzol mit 20 ccm Toluol aufgenommen, die zusammen mit der Chlorkalklösung turbinirt wurde. Nach der Zugabe der Triperideinlösung wurde die Benzol-Toluol-Schicht abgetrennt, die Chlorkalklösung nochmals mit 40 ccm Benzol und 20 ccm Toluol ausgeschüttelt, die vereinigten Lösungen mit Natriumsulfat getrocknet und wie beim *N*-Chlorpiperidin jodometrisch titriert. Die Titration verschiedener Darstellungen ergab, daß 91–95% d. Th. aktives Chlor vorhanden waren. Dann wurde die Benzol-Toluollösung, die in einer Kältemischung aufbewahrt worden war, innerhalb 5 Min. zu einer 10proz. alkohol. Kalilauge (10% Überschuß über die theoret. Menge) zutropft und dabei am absteigenden Kühler abdestilliert. Die Aufarbeitung ergab, daß 10% des eingesetzten Stickstoffs in Ammoniak übergegangen waren. An ätherlöslichen Basen waren nur 16% d. Th. entstanden; der Rest bestand aus dunklen Harzen, von denen nur ein Teil in Benzol löslich war. Die äther- und benzollöslichen Anteile ließen sich

⁶³) Die angewandten Bedingungen sind für die Bildung einer Diazoaminoverbindung besonders günstig; vgl. H. Mehner, Journ. prakt. Chem. [2] 65, 401 (1902).

auch im Hochvak. nicht destillieren; kristallisierte Salze konnten nicht gewonnen werden.

Versuche mit Isotripiperidein verliefen analog; als einziges identifizierbares Reaktionsprodukt wurden auch hier 10% d. Th. Ammoniak gefaßt.

β -Tripiperidein (Br., K.)

In größerer Menge erhielten wir das β -Tripiperidein in drei Versuchen, in denen wir in der beim α -Tripiperidein beschriebenen Weise mit alkohol. Kalilauge Salzsäure aus *N*-Chlor-piperidin abspalteten (Br.). Welche Faktoren in diesen drei Fällen für die bevorzugte Bildung von β -Tripiperidein entscheidend waren, können wir mangels einer genügenden Anzahl systematischer Versuche noch nicht angeben. In zwei Fällen war im Gegensatz zu früheren Versuchen eine Lösung von Kaliumhydroxyd in wasserfreiem Alkohol verwandt worden; außerdem war die alkohol. Lösung nach dem Kochen im Gegensatz zu früheren Versuchen wesentlich tiefer mit Kältemischung gekühlt worden.

β -Tripiperidein, das rein merklich beständiger ist als das Rohprodukt, schmilzt nach dem Umkristallisieren aus Aceton konstant bei 72–74° (schwaches Sintern ab 70°). Es läßt sich nur dann ohne Veränderung umkristallisieren, wenn die feingepulverte Substanz in so viel siedendes Aceton eingetragen wird, daß sofortige Lösung erfolgt, dann so schnell wie möglich abgesaugt und das Filtrat sofort in einer Kältemischung gekühlt wird. Kocht man die Acetonlösung auch nur kurze Zeit oder filtriert sie in üblicher Weise heiß, so wird α -Tripiperidein erhalten. Das Mol.-Gew. wurde kryoskopisch in über Natrium dest. thiophenfreiem Benzol bestimmt. Aus der Benzollösung wurde das β -Tripiperidein durch rasches Eindampfen im Vak. bei Zimmertemperatur unverändert mit dem nur wenig schlechteren Schmp. 69–70° zurückgewonnen.

C ₁₅ H ₂₇ N ₃ (249,4)	Ber. C 72,24	H 10,91	N 16 85	Mol.-Gew. 249
Gef. „ 72,20	„ 10,75	„ 16,96	„ 234, 244, 219.	

β -Tripiperidein gibt sowohl mit Iso- wie mit α -Tripiperidein eine starke Schmp.-Erniedrigung.

In Anisol wurde mit Methylmagnesiumjodid bei Zimmertemperatur kein Methan entwickelt. Wurden 5,0 g β -Tripiperidein vom Schmp. 70–72° (Sintern ab 69°) bei 0,5 Torr aus einem Ölbad destilliert, so ging, als 180–190° Ölbadtemperatur erreicht waren, bei 160° Innentemperatur die Gesamtmenge innerhalb von 10 Min. als zähes Öl über, das in der Vorlage sofort zu Kristallen vom Schmp. 67–70° (Sintern ab 65°) erstarrte (Mischprobe).

Die Titration wurde so durchgeführt, daß 1,661 g β -Tripiperidein fein gepulvert mit 10 ccm wasserfreiem Methanol übergossen wurden, wobei augenblicklich Lösung eintrat, und 30 ccm Wasser zugefügt wurden. Die sofortige Titration mit 1,00 *n*-HCl (Methylrot) ergab einen augenblicklichen Verbrauch von 19,3 ccm; dann wurde die Titration schleppend bis 19,9 ccm (ber. 20,0 ccm) bis zum Umschlagspunkt verbraucht waren. Das Ergebnis könnte darauf hinweisen, daß in dem verwandten Präparat noch 9% Isotripiperidein enthalten waren, das sich zu $\frac{1}{3}$ schleppend titriert. Diese Menge hätte sich aber sowohl bei der katalytischen Hydrierung als besonders bei der Kondensation mit *o*-Amino-benzaldehyd nachweisen lassen müssen, was nicht der

Fall war. Außerdem hätte sich diese Beimengung auch schon im Schmp. des verwandten β -Tripperideins durch eine Schmp.-Erniedrigung äußern müssen. So bleibt nur die Annahme, daß bei dem langsamen Neutralisieren während der Titration schon ein teilweiser Übergang in Isotripperidein stattfand, der bei der katalytischen Hydrierung und bei der Kondensation mit *o*-Amino-benzaldehyd deshalb ausblieb, weil dort die Gesamtmenge der nötigen Salzsäure auf einmal zugefügt wurde.

Die *katalytische Hydrierung* wurde so durchgeführt, daß 1,66 g β -Tripperidein mit einer Mischung von 25 ccm 1 *n*-HCl und 10 ccm Wasser übergossen und die Lösung sofort mit 250 mg unter Wasser vorhydriertem Platinosyd unter Wasserstoff geschüttelt wurde. Trotz niedriger Raumtemperatur wurde in kurzer Zeit die für 3 Mol berechnete Menge Wasserstoff von 250 ccm (korr.; ber. 248 ccm) aufgenommen. Die Aufarbeitung ergab 2,41 g (ber. 2,43 g) Piperidin-hydrochlorid vom Rohschmp. 237—241° (Sintern ab 233°; Mischprobe), das sich in absol. Alkohol ohne Rückstand löste (Abwesenheit von α,β -Dipiperidyl-dihydrochlorid); Schmp. nach dem Umkristallisieren 239—240°.

Die *Kondensation mit o-Amino-benzaldehyd* wurde genau wie beim α -Tripperidein beschrieben bei p_H 4,6 und 25° durchgeführt und ergab 99% d. Th. rotes Pikrat von Xa vom Schmp. 171—172° (Sintern ab 169°), das keine in Methanol schwer löslichen Anteile enthielt.

Die *Umsetzung mit Phenylsenföl* wurde bei Zimmertemperatur in der gleichen Weise, wie beim α -Tripperidein beschrieben, durchgeführt. Nur wurde die alkohol. Mutterlauge durch zweimaliges Einengen i. Vak. und nochmaliges Stehenlassen aufgearbeitet, wobei 90% d. Th. der aus 2 Mol Δ^1 -Piperidein und 1 Mol Phenylsenföl aufgebauten Verbindung XVII vom Rohschmp. 139—141° (Mischprobe) erhalten wurden:

Isotripperidein

Isotripperidein aus α -Tripperidein (J., K.)

1. *In Aceton mit Piperidinhydrochlorid (J.)*: 1,2 g reines α -Tripperidein wurden in 2 ccm Aceton mit 0,05 g Piperidinhydrochlorid 1 Stde. unter Rückfluß gekocht, und dann die gelblich verfärbte Acetonlösung vom Piperidinsalz abfiltriert. Durch Einengen des Filtrats konnten 0,7 g Isotripperidein vom Schmp. 95—97° (Mischprobe) isoliert werden. Aus der Mutterlauge kam ein Öl, das nur sehr langsam Ansätze zur Kristallisation zeigte.

Mit alkal. Katalysatoren tritt keine Umwandlung ein. Wurden 1,6 g α -Tripperidein in 2 ccm Aceton mit 0,05 g Kaliumcarbonat wie vorstehend behandelt, so konnten nach 1-stdg. Kochen 88% der eingesetzten Verbindung unverändert mit dem Schmp. 60—61° zurückerhalten werden.

2. *In Kohlenwasserstoffen (K.)*: Die Umwandlung in solchen Lösungsmitteln wurde zuerst beobachtet, als in der Hoffnung, mit Δ^1 -Piperidein vielleicht eine Diensynthese durchführen zu können, α -Tripperidein mit Cyclohexadien-(1,3) erhitzt wurde. 6,0 g α -Tripperidein wurden mit 6,0 g Cyclohexadien 48 Stdn. im Einschlußrohr auf 110° erhitzt, dann das Cyclohexadien im Vakuumexsiccator verdunstet, und der teilweise kristallisierte Rückstand auf Ton gestrichen. Es wurden so 3,7 g farblose Kristalle erhalten, die roh unscharf bei 80° schmolzen. Zweimal aus wasserfreiem Äther: Schmp. konstant bei 97—98° (Mischprobe).

Auch in Toluol als Lösungsmittel ließ sich die Überführung in Isotripperidein, wenn auch weniger glatt, bewerkstelligen. Beim 48stdg. Erhitzen von α -Tripperidein ohne Lösungsmittel auf 110° wurde dagegen nur eine sehr geringe Menge (weniger

als 10% d. Th.) Isotripiperidein neben Ölen und unverändertem α -Tripiperidein erhalten.

Die Hauptmenge des von uns verwendeten Isotripiperideins erhielten wir bei Versuchen, in der beim α -Tripiperidein geschilderten Weise aus *N*-Chlor-piperidin Salzsäure abzuspalten, und zwar offenbar dann, wenn bei der Aufarbeitung die Kohlensäure der Luft nicht sorgfältig ausgeschlossen wurde. Das Rohprodukt bestand manchmal schon zum überwiegenden Teil aus Isotripiperidein, manchmal aus einem Gemisch von α -Tripiperidein und Isotripiperidein, das durch Kristallisation aus Aceton leicht zu trennen ist.

Isotripiperidein bildet aus Aceton große, wasserklare Prismen vom Schmp. 97—98°.

$C_{16}H_{27}N_2$ (249,4)	Ber. C 72,24	H 10,91	N 16,85	Mol.-Gew. 249
	Gef. „ 72,20	„ 10,88	„ 16,53	„ „ 226, 241

(kryoskop. in Benzol).

Isotripiperidein entwickelte in Anisol mit überschüss. Methylmagnesiumjodid in Isoamyläther (Merck) in der Kälte rasch eine Methanmenge, die 1,14, 1,10, 1,18 aktiven Wasserstoffatomen entsprach. Bei 100° wurde sehr rasch noch mehr Methan entwickelt; nach Entwicklung von etwa 2 Mol Methan verlangsamte sich aber die Gasentwicklung sehr erheblich. Bei der *Titration* in wässr. Lösung mit *n*-HCl und Methylrot als Indicator verbraucht Isotripiperidein etwa $\frac{2}{3}$ der berechneten Menge Säure augenblicklich, dann wird aber die Titration „ziehend“ und es dauert in der Kälte jeweils einige Minuten, bis die zugesetzte Säure verbraucht und der Indicator nach Gelb umgeschlagen ist. Schließlich wird aber scharf die 3 Äquiv. entsprechende Menge Säure verbraucht. Bei der *Destillation* einer kleinen Menge der reinen Base bei 0,06 Torr aus einem Ölbad, dessen Temperatur von 155° auf 220° gesteigert wurde, stieg die Temperatur des Dampfes stetig von 100° auf 150°. Das farblose Destillat erstarrte sofort zu praktisch geruchlosen Kristallen, die nicht ganz scharf bei 91—95° (Sintern ab 80°) schmolzen. Wurde das Isotripiperidein im Wasserstrahlvakuum von 15 Torr destilliert, so stieg die Temperatur des Dampfes gleichmäßig von 100° auf 190°. Das Destillat war gelblich, besaß starken Sperrmageruch und kristallisierte nur langsam und teilweise. Nach dem Abpressen auf Ton lag der Schmelzpunkt des kristallisierten Anteils bei 82—90° (Sintern ab 75°).

In saurer Lösung ist Isotripiperidein ebensowenig beständig wie α -Tripiperidein. Wurde wie dort in dem Doppelten der theoret. Menge *n*-HCl gelöst, nach 3 Min. alkalisch gemacht und ausgeäthert, so erstarrte der Ätherrückstand nur noch teilweise zu Kristallen, die sich erst nach dem Anreiben mit Aceton isolieren ließen und dann bei 97—98° schmolzen. Nach längerem Stehen in-saurer Lösung kristallisierte die wieder in Freiheit gesetzte Base nur noch spurenweise.

Mit α - und β -Tripiperidein gibt Isotripiperidein eine starke Schmp.-Erniedrigung.

Katalytische Hydrierung des Isotripiperideins (K.)

Während in Methanol, unter den Bedingungen, unter denen α -Tripiperidein zu Piperidin hydriert wird, kein Wasserstoff aufgenommen wurde, und auch in wässr. Lösung keine Hydrierung eintrat, gelang die Hydrierung glatt in wässr.-salzsaurer Lösung.

12,00 g Isotriperidein vom Schmp. 97—98° wurden kalt in 150 ccm n -HCl gelöst und die Lösung sofort mit 1,5 g Platinoxid unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 2 Stdn. war die Wasserstoffaufnahme nahezu, nach 6 Stdn. völlig beendet. Sie betrug insgesamt 66,6, in einem zweiten Versuch 69,6%, also $\frac{2}{3}$ der für 1 Mol Wasserstoff auf 1 Stickstoffatom berechneten Menge. Die vom Platin abfiltrierte Lösung wurde i. Vak., zuletzt über Phosphorpentoxid völlig zur Trockne eingengt, der Rückstand, 17,45 g (100% d. Th.) eines schneeweißen Kristallpulvers, mit 80 ccm absol. Alkohol unter Rückfluß ausgekocht und der ungelöste Anteil nach dem Erkalten abgesaugt. Es wurden so 7,72 g (entspr. 32 mmol und 44% des eingesetzten Stickstoffs) Dihydrochlorid des α,β -Dipiperidyls (XXII) erhalten, das beim Erhitzen bis 350° unverändert blieb. Die alkohol. Lösung wurde i. Vak. zur Trockne verdampft, der Rückstand (9,73 g vom unscharfen Schmp. 190—200°) in wenig Wasser aufgenommen und unter Kühlung mit 20 ccm 50proz. Kalilauge versetzt, wobei sich ein farbloses, rasch zu Nadeln erstarrendes Öl ausschied. Es wurde im Flüssigkeitsextraktor ausgeäthert, die äther. Lösung mit festem Kaliumhydroxyd getrocknet und der Äther abdestilliert. Der Ätherückstand betrug 3,67 g (entspr. 20 mmol und 27% des eingesetzten Stickstoffs) von größtenteils kristallinem, aber noch stark nach Piperidin riechendem und offenbar mit diesem verunreinigten *Epi*- α,β -dipiperidyl (XXII). Der abdestillierte Äther, etwa 500 ccm, wurde mit 50 ccm 2*n*-HCl ausgezogen und der Auszug i. Vak. zur Trockne gebracht. Die zurückgebliebenen 40 g (entspr. 36 mmol und 25% des eingesetzten Stickstoffs) Piperidinhydrochlorid schmolzen roh bei 238—242°, nach dem Umkristallisieren aus Alkohol bei 242 bis 243°. Die Mischprobe mit Piperidinhydrochlorid gab keine Erniedrigung. Auch das nach dem Umkristallisieren aus Eisessig bei 243° unter Zersetzung schmelzende Pikrolonat gab mit einem Vergleichspräparat von *Piperidin-pikrolonat* keine Schmp.-Erniedrigung.

α,β -Dipiperidyl (XXII, K.)

Das bei der Hydrierung erhaltene, in absol. Alkohol praktisch unlösliche *Hydrochlorid* des α,β -Dipiperidyls bildete nach dem Umkristallisieren aus 80proz. Alkohol feine, farblose Nadelchen, die in Wasser spielend löslich sind; sie schmolzen bis 360° nicht.

$C_{10}H_{20}N_2$, 2 HCl (241,2) Ber. C 49,79 H 9,19
Gef. „ 50,08 „ 9,26.

Das durch Fällen der wässr. Lösung des Hydrochlorids mit Natriumpikratlösung gewonnene *Pikrat* schmolz nach dem Umkristallisieren aus verd. Alkohol konstant bei 222—224° unter Aufschäumen (Lit.: 224°⁶¹⁾). Es ist orangefarben:

$C_{10}H_{20}N_2$, 2 $C_6H_3O_7N_3$ (626,5) Ber. C 42,17 H 4,18
Gef. „ 42,93 „ 4,32.

Das aus der wässr. Lösung des Hydrochlorids mit wässr.-alkohol. Pikrolonsäure gefällte *Pikrolonat* bildete nach dem Umkristallisieren aus 50proz. Ameisensäure feine, zu Igeln angeordnete Nadeln, die bei 277° (Zers.) schmolzen.

⁶¹⁾ C. R. Smith, Journ. Amer. chem. Soc. 50, 1936 (1928); 54, 397 (1932).

$C_{10}H_{20}N_2$, 2 $C_{10}H_8O_5N_4$ (696,7) Ber. C 51,72 H 5,21 N 20,11
Gef. „ 51,72 „ 5,34 „ 20,04.

Das *Chloroplatinat* schmolz roh bei 246° (Zers.) und änderte den Schmp. auch beim Umkristallisieren aus einer Mischung von Alkohol mit verd. Salzsäure nicht mehr.

Das *Chlortaurat* wurde durch Versetzen einer wässr. Lösung des Hydrochlorids mit der berechneten Menge Goldchlorid-chlorwasserstoffsäure dargestellt. Es bildete lange, orangegelbe, flach abgeschnittene Nadeln von paralleler Auslöschung. Schmp. aus verd. Salzsäure 228° (Zers.).

Das freie α,β -Dipiperidyl wurde durch Extraktion der mit starkem Alkali versetzten wässr. Lösung des Hydrochlorids mit Äther im Extraktionsapparat, Trocknen der Ätherlösung mit festem Kaliumhydroxyd, Einengen und Versetzen mit Petroläther vom Sd. 30–40° in schönen, langer, seideglänzenden Nadeln vom Schmp. 66–68° (Sintern ab 64°) erhalten. Das Mol.-Gew. wurde teils kryoskopisch in Benzol, teils nach Rast in Campher bestimmt (letzter Wert).

$C_{10}H_{20}N_2$ (168,3) Gef. Mol.-Gew. 159, 159 (kryoskop. in Benzol), 170.

Die Base ist sehr hygroskopisch und zieht begierig Kohlensäure aus der Luft an. *Bis-phenylthioharnstoff*: 0,33 g Base wurden in 3 cem absol. Alkohol mit 0,53 g Phenylsulfid 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen ließen sich 0,79 g (93% d. Th.) Kristalle gewinnen, die roh bereits konstant bei 138–140° unter Aufschäumen schmolzen. Der Schmelzpunkt änderte sich auch nach dem Umkristallisieren aus absolutem Alkohol, aus dem die Substanz in winzigen Rhomben kommt, nicht mehr.

$C_{24}H_{30}N_4S_2$ (438,6) Ber. C 65,72 H 6,90 N 12,78 S 14,62
Gef. „ 64,95 „ 6,85 „ 11,36 „ 14,53.

Epi- α,β -dipiperidyl (XXII, K.)

Das bei der katalytischen Hydrierung des Isotripiperideins als Base isolierte rohe *Epi- α,β -dipiperidyl* wurde aus Aceton umkristallisiert, aus dem es in großen, wasserhellen Prismen vom Schmp. 92–94° herauskommt. Bei längerem Aufbewahren im Exsiccator verwittern die Kristalle des Hydrats; der Schmp. wird dann unscharf. Die hygroskopische Base zieht aus der Luft Kohlensäure an. In Mischung mit dem bei 97–98° schmelzenden Isotripiperidein zeigt die Base starke Schmp.-Erniedrigung.

$C_{10}H_{20}N_2 + H_2O$ (186,3) Ber. C 64,47 H 11,90 N 15,04
Gef. „ 64,57 „ 11,87 „ 13,81.

Die Mol.-Gew.-Bestimmung wurde nach Rast in Campher durchgeführt. Da hierbei das Kristallwasser entweicht, wurde der für die kristallwasserfreie Base berechnete Wert gefunden.

$C_{10}H_{20}N_2$ (168,3) Gef. Mol.-Gew. 159.

Das *Hydrochlorid* bildete aus Alkohol unter Zusatz von etwas Äther teilweise zu Büscheln angeordnete Stäbchen, die bei 260–262° schmelzen.

$C_{10}H_{20}N_2$, 2 HCl (241,2) Ber. C 49,79 H 9,19 N 11,61
Gef. „ 49,62 „ 9,16 „ 11,15.

Das aus der wässr. Lösung des Hydrochlorids mit Natriumpikratlösung gefällte *Pikrat* schmolz nach dem Umkristallisieren aus verd. Methanol bei 145–147° unter Aufschäumen. Es ist heller gelb gefärbt als das Pikrat des α,β -Dipiperidyls.

Das aus der wässr. Lösung des Hydrochlorids mit wässr.-alkohol. Pikrolonsäure gefällte *Pikrolonat* bildete Büschel von langen, gelben Nadeln, die bei 270° (Zers.) schmolzen. Aus Nitrobenzol winzige Körner vom Schmp. 273° (Zers.).

$C_{10}H_{20}N_2$, 2 $C_{10}H_8O_5N_4$ (696,7) Ber. C 51,72 H 5,21 N 20,11
Gef. „ 52,40 „ 5,42 „ 19,85.

Chloroplatinat: Dicke, orangerote Prismen; aus salzsäurehaltigem Alkohol Schmp. 253° (Zers.).

Chloraurat: Kurze, oft gezackte Nadeln von paralleler oder leicht schiefer Auslöschung; Schmp. aus verd. Salzsäure 230°. In Mischung mit dem Chloraurat des α, β -Dipiperidyls zeigte es keine Schmp.-Erniedrigung.

Bis-phenylthioharnstoff: 0,23 g Hydrat des Epi- α, β -dipiperidyls wurden in 3 cm absol. Alkohol mit 0,34 g Phenylsenföl 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Schon nach wenigen Minuten schiedern sich lange, dünne Nadeln aus, die nach 1 Stde. abgesaugt, mit Alkohol, in dem sie praktisch unlöslich sind, nachgewaschen und getrocknet wurden. Rohschmp. 197–198°; Ausb. 0,55 g, also, quantitativ. Nach dem Umkristallisieren aus Amylalkohol war der Schmp. unverändert.

$C_{24}H_{30}N_4S_2$ (438,6) Ber. C 65,72 H 6,90 N 12,78 S 14,62
Gef. „ 65,74 „ 6,75 „ 11,89 „ 14,71.

Die Kondensation von Isotripiperidein mit *o*-Amino-benzaldehyd (K., Br.)

1) Bei 25°⁶⁵): Die Kondensationen wurden jeweils mit 1,25 g Isotripiperidein und 1,85 g *o*-Amino-benzaldehyd in der beim α -Tripiperidein beschriebenen Weise bei p_H 3,6 und 4,6 durchgeführt. Nach dreitägigem Stehen im Thermostaten bei 25° waren die mit Isotripiperidein angesetzten Kondensationslösungen beim unmittelbaren Vergleich deutlich gelbstichiger rot, also heller als die rein roten aus α -Tripiperidein erhaltenen.

Vergleich der bei p_H 3,6 angesetzten Versuche im Pulfrich-Photometer.

Lösung von	Filter	Schichtdicke (cm)	Extinktion E	Extinktionskoeffizient
α -Tripiperidein	S 57	5	0,509	0,102
„	„	2	0,244	0,122
„	S 53	0,2	1,000	5,00
„	„	0,1	0,509	5,09
Isotripiperidein	S 57	2	0,145	0,072
„	S 53	0,2	0,585	2,93

Danach verhalten sich die mittleren Extinktionskoeffizienten der bei 25° hergestellten Lösungen aus α - und Isotripiperidein bei Anwendung des Filters S 57 wie 0,112:0,072 und bei Anwendung des Filters S 53 wie 5,05:2,93. Der Quotient 1,56 bzw. 1,72 entspricht mit genügender Genauigkeit dem Verhältnis 3:2 (= 1,50).

Da bei den Kondensationsversuchen mit Isotripiperidein der *o*-Amino-benzaldehyd im Überschuß vorhanden war, hatten sich aus den Kondensationslösungen geringe Mengen Trisanhydro-*o*-amino-benzaldehyd ausgeschieden, von denen abfiltriert wurde. Beim allmählichen Versetzen der Lösungen mit 4,0 g fein gepulverter Pikrinsäure unter gutem Umschütteln fiel ein Pikrat aus, das heller rot war, als das aus α -Tripiperidein erhaltene. Es wurde nach 3tägigem Stehenlassen unter der Mutterlauge nach Eiskühlung abgesaugt. Erhalten wurden bei p_H 3,6 5,57 g, bei p_H 4,6 5,62 g, was 97 bzw. 98% d. Th. entspricht. Das Pikrat schmolz als Rohprodukt zwischen 160° und 170° und erwies sich schon unter der Lupe als uneinheitlich. Neben einem orangegelben Pikrat waren Körner eines roten Pikrats zu erkennen, das die gleiche

⁶⁵) Bei 30° wurde das gleiche Ergebnis erhalten.

Farbe hatte wie das aus α -Tripperidein erhaltene Pikrat des Kondensationsprodukts Xa^{66}).

Die Trennung der Pikrate wurde zunächst durch Auskochen mit etwa der vierfachen Menge Eisessig erreicht, die nötig wäre, um das Pikrat in Lösung zu bringen, wenn es ganz aus dem roten Pikrat von Xa bestände. Es wurden jeweils 1 g des Pikratgemisches mit 10 ccm heißem Eisessig übergossen, drei Minuten gekocht und noch heiß abgesaugt. Längeres Kochen ist unbedingt zu vermeiden, da sich sonst entsprechend dem bei α -Tripperidein beschriebenen Versuch das rote Pikrat des 2,3-Tetramethylen-1,2-dihydro-chinazoliniumhydroxyds (Xa) in merklichem Betrag in das gelbe, schwer lösliche Dipikrat des β -(ω -Aminopropyl)-chinolins umwandelt, was die Ausbeute an orangefarbenem Pikrat von XXIII zu hoch erscheinen läßt⁶⁷). Das Ungelöste bestand aus bereits schmelzpunktreinem orangefarbenem Dipikrat von XXIII, während das rote Pikrat von Xa aus der Mutterlauge durch Einengen i. Vak. und Absaugen erhalten werden konnte. Von 1,00 g des Rohpikrats aus dem Versuch bei p_H 3,6 waren 0,62 g, von 1,00 g des Rohpikrats aus dem Versuch bei p_H 4,6 0,53 g in 10 ccm heißem Eisessig unlöslich, während sich 0,635 g berechnen, wenn die beiden Pikrate in äquimolekularen Mengen entstehen. Das ungelöste Dipikrat schmolz als Rohprodukt bei 175–178° und änderte seinen Schmp. auch beim Umkristallisieren aus Eisessig, aus dem es in länglichen Prismen kristallisiert, nicht mehr. 1 g des Dipikrats von XXIII geht bei 3 Min. langem Kochen mit 100 ccm siedendem Eisessig und bei 4 Min. langem Kochen mit 500 ccm siedendem Aceton bzw. 600–650 ccm siedendem Methanol in Lösung.

$C_{20}H_{29}O_{14}N_9$ (727,6) Ber. C 47,87 H 4,02 N 17,33
Gef. „ 47,44 „ 4,24 „ 16,65.

Aus den Mutterlaugen von der Trennung des Rohpikrats wurden durch Eindampfen i. Vak. 0,27 g bzw. 0,36 g rotes Pikrat des Kondensationsprodukts Xa erhalten, das roh bei 168–170° schmolz und seinen Schmelzpunkt beim Umkristallisieren aus Eisessig nicht mehr änderte. Das orangegelbe Dipikrat des Kondensationsproduktes XXIII gab mit dem roten Pikrat des Kondensationsprodukts Xa gemischt keine deutliche Schmp.-Erniedrigung. Um die beiden Pikrate sicher identifizieren zu können, muß man daher die Löslichkeit in heißem Eisessig, Aceton oder Methanol bestimmen, durch die sie allein eindeutig zu unterscheiden sind.

Der Nachteil der Trennung mit *Eisessig* ist, daß aus der Mutterlauge das rote Pikrat von Xa nicht quantitativ gewonnen werden kann, weil aus den letzten Mutterlaugen immer rote Schmierer erhalten werden. Dies kann vermieden werden, wenn die Trennung der Pikrate durch Auskochen mit *Aceton* oder *Methanol* erfolgt, also mit niedriger siedenden Lösungsmitteln, aus denen die Gesamtmenge des darin leichter löslichen Pikrats von Xa beim Eindampfen in kristallisiertem Zustand wiedergewonnen werden kann (Br.).

Zum Beispiel wurden aus 5,65 g rohem Pikrat vom Schmp. 166–168° (Sintern ab 165°) aus einem bei p_H 4,6 und 25° wie oben beschrieben durchgeführten Kondensationsversuch bei der Trennung mit *Aceton* 3,30 g (ber. 3,64 g) orangefarbenes Pikrat von XXIII und 2,25 g (ber. 2,08 g) rotes Pikrat von Xa isoliert. Von letzterem wurde etwas zu viel erhalten, weil das orangefarbene Pikrat zum Teil mitgeht.

Für die Analyse des Pikratgemisches ist die Aufarbeitung mit *Methanol* am günstigsten, da sie die praktisch quantitative Erfassung

⁶⁶) Nach etwa 14 Tagen kristallisierten aus der Mutterlauge wie beim Kondensationsversuch mit α -Tripperidein noch etwa 0,1 g bräunlichgelbes Pikrat des β -(ω -Amino-propyl)-chinolins (XV) vom Rohschmp. 215–217° (Mischprobe).

⁶⁷) Diese Gefahr ist bei der nachstehend beschriebenen Trennung mit Aceton oder Methanol wegen des niedrigeren Siedepunkts dieser Lösungsmittel kaum vorhanden. Durch Auskochen mit Wasser ist die Trennung nicht durchzuführen, weil dabei entsprechend dem nachstehend geschilderten Versuch das Pikrat von XXIII in das Pikrat von Xa übergeht.

aller Reaktionsprodukte in kristallisiertem Zustand ermöglicht. Zum Beispiel wurden aus 3,745 g des rohen Pikratgemisches 2,330 g (ber. 2,424 g) entspr. 96% d. Th. orangefarbenes Dipikrat von XXIII vom Schmp. 175–177° (Sintern ab 174°) und 1,340 g (ber. 1,384 g) entspr. 97% d. Th. rotes Pikrat von Xa isoliert.

2. Bei 100°; β -[ω -Amino-propyl]-chinolin(XV; K.): Kondensiert man 1,25 g in der berechneten Menge verd. Salzsäure in der Kälte gelöstes Isotripiperidein bei p_H 4,6 mit 1,85 g o-Amino-benzaldehyd durch 6-stdg. Erhitzen auf 100° in der beim α -Tripiperidein beschriebenen Weise, so beobachtet man die gleichen Erscheinungen wie dort. Mit Pikrinsäure wird in der gleichen Ausbeute wie dort das Dipikrat des β -[ω -Amino-propyl]-chinolins (XV) erhalten, das als Rohprodukt bei 202 bis 205°, nach dem Umkristallisieren aus 40proz. Ameisensäure konstant bei 216–217° (Zers.) schmolz (Mischprobe). Das daraus hergestellte Hydrochlorid schmolz bei 230° (Zers., Sintern ab 225°; Mischprobe).

Umwandlung von XXIII in X (Br.): 0,20 g orangefarbenes Dipikrat von XXIII vom Schmp. 178° wurden mit 300 ccm Wasser 15 Min. gekocht, wobei sie allmählich in Lösung gingen, und anschließend die Lösung i. Vak. auf 20 ccm eingeengt. Beim Abkühlen kristallisierten 0,13 g offenbar noch durch etwas amorphes Pikrat verunreinigtes und daher nicht ganz scharf zwischen 150° und 160° schmelzendes zinnoberrotes Pikrat des Kondensationsprodukts Xa, das in der zehnfachen Menge heißen Eisessigs sich praktisch völlig löste und beim Abkühlen in zinnoberroten, aber immer noch nicht ganz reinen Kristallen vom Schmp. 154–157° (Mischprobe) herauskam. Wegen dieses leichten Übergangs ist es nicht möglich, ein Gemisch der Pikrate von XXIII und Xa durch Auskochen mit Wasser oder durch fraktionierte Kristallisation daraus zu trennen.

Die Einwirkung von Phenylsenföl auf Isotripiperidein (K.)

1. Bei Zimmertemperatur. 1,0 g Isotripiperidein wurden in 12 ccm absol. Alkohol mit 0,85 g Phenylsenföl bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Erst nach einigen Tagen bildeten sich einige Kristalle. Sie wurden nach 18tägigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur abgesaugt, mit wenig Alkohol nachgewaschen und getrocknet. Es waren nur 0,18 g des Umsetzungsprodukts XXIV entstanden, das roh bei 185 bis 187° unter Braunfärbung schmolz. Es erwies sich durch die Mischprobe als identisch mit dem aus α -Tripiperidein in der Hitze erhaltenen, rein bei 198–200° schmelzenden Umsetzungsprodukt.

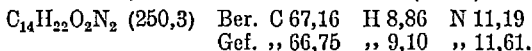
2. In siedendem Alkohol: Die Lösung von 2,00 g Isotripiperidein in 10 ccm absol. Alkohol wurde mit der Lösung von 4,00 g Phenylsenföl in 10 ccm Alkohol 6 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Dabei schieden sich schon während des Kochens große, farblose Kristalle ab, die nach dem Absaugen, Nachwaschen mit wenig Alkohol und Trocknen 2,52 g wogen und bei 192–194° unter Braunfärbung schmolzen. Durch Zusatz von absol. Äther zur Mutterlauge konnten weitere 0,18 g ebenfalls bei 192–194° schmelzende Kristalle ausgefällt werden. Die insgesamt isolierten 2,70 g entsprechen einer Ausbeute von 77% d. Th. Durch Umkristallisieren aus Alkohol stieg der Schmp. auf den konstanten Wert 198–200° (unter Gelbfärbung). Die Verbindung XXIV gab mit der aus α -Tripiperidein in der Hitze erhaltenen keine Schmp.-Erniedrigung.

Die Mutterlaugen wurden im Exsiccator eingedunstet und der halbfeste Rückstand auf Ton gestrichen. Dabei blieben auf dem Ton 2,52 g einer klebrigen Masse zurück, welche beim Anreiben mit Aceton bis auf einen geringen harzigen Rest, der abgesaugt wurde, in Lösung ging. Beim Eindunsten der Acetonlösung schieden

sich 0,10 g lange Nadeln aus, welche roh bei 136–140°, nach dem Umkristallisieren aus Alkohol bei 144–145° schmolzen und sich durch die Mischprobe als mit der aus α -Tripiperidein in der Kälte erhaltenen Verbindung (XVII) identisch erwiesen.

Acetylierung des Isotripiperideins (K.)

4,00 g *Isotripiperidein* wurden in der beim α -Tripiperidein beschriebenen Weise acetyliert und aufgearbeitet. Als Rückstand wurden 6,22 g eines dicken, gelblichen Öles erhalten, was der für den Eintritt von einem Acetylrest auf ein Stickstoffatom berechneten Menge genau entspricht. Bei der Destillation im Hochvak. gingen 1,94 g (31% des Reaktionsprodukts) als leichtflüssiges, farbloses Öl bei 55–59°/0,4 Torr über, entspr. 97% der für die Entstehung von 1 Mol *N*-Acetyl- Δ^2 -piperidein aus 1 Mol Isotripiperidein berechneten Menge. Der Rest ging bei 0,2 Torr fast ohne Rückstand zwischen 180° und 210° als fast farbloses, sehr viscoses Öl und bei nochmaliger Destillation unter 0,03 Torr bei 170–200° über (XXV).

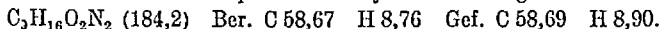


Bei der katalytischen Hydrierung in Alkohol mit Platinoxid, die in derselben Weise wie beim *N*-Acetyl- Δ^2 -piperidein vorgenommen wurde, wurde nur sehr langsam Wasserstoff aufgenommen. Die Wasserstoffaufnahme erreichte erst nach 24 Stdn. und nachdem zwischendurch nochmals 0,15 g Platinoxid zugesetzt worden waren, 80% der berechneten Menge. Bei der Verseifung des Hydrierungsprodukts mit konz. Salzsäure wurde eine geringe Menge des bis 360° nicht schmelzenden Hydrochlorids des α,β -*Dipiperidyls* erhalten. Die berechnete Menge Brom in Chloroform wurde von der Verbindung dagegen augenblicklich entfärbt; von da ab trat die Entfärbung nur noch langsam ein. Aus der bromierten Lösung konnte nichts Kristallisiertes isoliert werden.

Anhang

Isotripiperidein aus α -Amino-*N,N'*-diacetyl-piperidin (H.)⁶⁸⁾

*α -Amino-*N,N'*-diacetyl-piperidin*: Wurde *α -Amino-pyridin*⁶⁹⁾ unter den von Kirssanow und Iwaschtschenko angegebenen Bedingungen hydriert⁷⁰⁾, so wurde aus 5,0 g α -Amino-pyridin nach Aufnahme von 2,8–2,9 Mol Wasserstoff in 4 Stdn. durch Abdampfen des Eisessig-Essigsäureanhydrid-Genisches i. Vak. ein öliger Rückstand erhalten, der nach mehrfachem Ausziehen mit kaltem absol. Äther und anschließendem Anreiben mit eisgekühltem Aceton 1,2 g Kristalle zurückließ, die roh bei 118–120° (Sintern ab 115°), nach dem Umkristallisieren aus wenig Aceton konstant bei 122–123° schmolzen und sich durch den Schmp. wie durch die Analyse als das gesuchte *α -Amino-diacetyl-piperidin* erwiesen. Aus den Äther- und Aceton-Auszügen konnte durch vorsichtigen Zusatz von Petroläther jeweils noch etwas Substanz gewonnen werden. Die Gesamtausbeute betrug jedoch nur 2,6 g, in einem zweiten Versuch 3,7 g (26 bzw. 38% d. Th.). Die Verbindung, die nach den Angaben der Literatur sich bei der Vakuumdestillation zersetzt, läßt sich im Hochvak. von 0,02 Torr bei 140–150° Badtemperatur ohne jede Zersetzung destillieren.



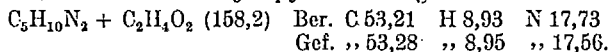
Die Äther- und Acetonmutterlaugen wurden vereinigt und der Abdampfdruckstand bei 0,3 Torr destilliert. Hierbei wurden Acetamid, daneben etwas Ammonium-

⁶⁸⁾ Diplomarbeit Irmgard Hagel, Techn. Hochschule Darmstadt, 1943. Die Arbeit ist eine Nacharbeitung der Versuche von J. N. Iwaschtschenko u. A. W. Kirssanow, Bull. Soc. Chim. France [5] 3, 2289 (1936) (C. 1937 I, 3802; vgl. C. 1937 I, 4639).

⁶⁹⁾ Zur Darstellung nach Tschitschibabin vgl. J. P. Wibaut u. E. Dingemans, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 42, 240 (1923).

⁷⁰⁾ Bull. Soc. Chim. France [5] 3, 2279 (1936) (C. 1937 I, 3801).

acetat und als bei einer Badtemperatur von 150° nicht mehr übergelender Rückstand Kristalle erhalten, die nach dem Anreiben mit Aceton (Ausb. dann 1,0 g) und zweimaligem Umkristallisieren daraus konstant bei 157—158° schmolzen. Die Analyse und die Überführung in das Pikrat vom Schmp. 206—207° (Lit.: 209⁷¹⁾) zeigten, daß das Acetat des α -Amino-tetrahydropyridins vorlag.



Wesentlich bessere Ausbeuten an α -Amino-diäcetyl-piperidin wurden erzielt, als 7,25 g α -Amino-acetyl-pyridin, das durch Kochen von 6,0 g α -Amino-pyridin mit 18 g Essigsäureanhydrid und Vakuumdestillation mit dem Sdp. 145—146° und dem Schmp. des Destillats 65—68° (Lit.: 71°) erhalten worden war⁷²), in 25 ccm mit Widmerspale destilliertem Essigsäureanhydrid und 1 g Platinoxid bei 19° unter Wasserstoff geschüttelt wurden, wobei bald, um die Hydrierung im Gang zu halten, weitere 0,2 g Platinoxid zugesetzt werden mußten. Nach 18 Stdn. kam die Hydrierung nach Aufnahme von 3,06 Mol Wasserstoff zum Stillstand. Nach dem Abdampfen des Essigsäureanhydrids i. Vak. lieferte der im Exsiccator gut getrocknete, kristallisierte Rückstand beim Anreiben mit Aceton und nach Aufarbeiten der Mutterlauge insgesamt 70% d. Th. an bereits bei 121—122° schmelzendem α -Amino-*N,N'*-diäcetyl-piperidin (XXI); Schmp. aus Aceton 123° (Lit. 122—123°).

Isotripiperidein wurde daraus nach den Angaben von Iwaschtschenko und Kirssanow dargestellt. Vermutlich läßt sich eine bessere Ausbeute erhalten, wenn man nicht über das Hydrochlorid, sondern über die freie Base aufarbeitet.

Isolierung von kristallisiertem α -Tripiperidein und Isotripiperidein aus dem „Isopiperidein“ von Fr. Heusler⁹⁾ (J.)

Die Zersetzung des Phenyl diazopiperidids wurde im wesentlichen nach den Angaben von Fr. Heusler durchgeführt, das Destillat, in dem nach der Titration 75% des eingesetzten Piperidinstickstoffs vorhanden war, jedoch durch fraktionierte Destillation mit einer 4 cm langen Widmerspale bei Atmosphärendruck aufgearbeitet. Aus dem nach dem Abdestillieren des Benzols und Piperidins verbleibenden Rückstand kristallisieren die polymeren Piperideine aus. Der nicht kristallisierende Anteil wurde mit *o*-Amino-benzaldehyd kondensiert und durch Trennung der Pikrate analysiert.

In zwei verschiedenen Versuchen wurden aus je 94,5 g Phenyl diazopiperidid 6,9 bzw. 6,6 g krist. α -Tripiperidein und in einem dritten Versuch 7,8 g krist. Isotripiperidein bei einer Gesamtausbeute von 14—16 g an Polypiperideinen erhalten. Eine Verbesserung der Ausbeute brachte der Zusatz von 5 g fein verteiltem Kupfer⁷³⁾; bei einer Gesamtausbeute von 17—19 g Polypiperideinen wurde in zwei Versuchen je 11,8 g α -Tripiperidein, in einem dritten Versuch 10,2 g Isotripiperidein erhalten. Ein Zusatz von 5 g Kaliumcarbonat hatte einen ebenso günstigen Einfluß auf die Ausbeute; es wurden 10,5 g Isotripiperidein kristallisiert erhalten. „Molekulares Kupfer“ (Kahlbaum) und Piperidinhydrochlorid brachten keine Verbesserung der Ausbeute gegenüber den Versuchen ohne Zusatz.

α -Tripiperidein aus *N*-Oxy-piperidin (J.)

N-Oxy-piperidin: Die Oxydation des Piperidins (85 g) wurde nach R. Wolfenstein⁷⁴⁾ in etwa 8proz. wässriger Lösung mit der für 1 Mol berechneten Menge Wasser-

⁷¹⁾ T. B. Grave, Journ. Amer. chem. Soc. 46, 1460 (1924).

⁷²⁾ M. Dohrn u. H. Horsters, Schering-A.G., Dtsch. Reichs-Pat., 406206; C. 1925 I, 1534.

⁷³⁾ Die auf Zimmertemperatur abgekühlte Lösung von 100 g Kupfersulfat in 340 ccm heißem Wasser wurde allmählich mit 35 g Zinkstaub versetzt, das ausgefallene Kupfer mit 2 *n*-HCl vom nicht verbrauchten Zinkstaub befreit und mit Wasser gewaschen.

⁷⁴⁾ B. 25, 2780 (1892).

stoffperoxyd durchgeführt. Die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte über die Chlorhydrate oder die freien Basen ist zweckmäßiger als die von Wolfenstein angegebene Trennung über die platinchlorwasserstoffsäuren Salze.

Bei dem ersten Verfahren wird die mit Alkali versetzte Reaktionslösung erschöpfend mit Wasserdampf destilliert, das mit Salzsäure angesäuerte Destillat zur Trockne verdampft und der kristallisierte Rückstand (87 g) sechsmal mit je 150 ccm Aceton 3 Min. gekocht und siedend heiß filtriert. Es bleiben 51 g (42% der eingesetzten Menge) Piperidin-hydrochlorid rein zurück, das in Aceton in der Hitze nur zu 0,1% löslich ist. Das durch Eindampfen der Mutterlauge erhaltene rohe *N*-Oxypiperidin-chlorhydrat (36 g) liefert nach dem Umkristallisieren aus absol. Alkohol 30,0 g Reinprodukt vom konstanten Schmp. 141°.

Beim zweiten Verfahren wird die Oxydationslösung mit 1 kg Kaliumkarbonat versetzt, ausgeäthert, und der Ätherrückstand i. Vak. destilliert. Es werden so 22,1 g *N*-Oxy-piperidin (22% d. Th.) vom Sdp.₁₅ 93° erhalten, das zu Kristallen vom Schmp. 39–40° erstarrt.

Piperidin-acetat verbrauchte in wässriger Lösung auch nach tagelangem Stehen die äquivalente Menge Wasserstoffperoxyd nicht. Bei der Oxydation von Piperidin mit peroxymonoschwefelsaurem Natrium konnte gleichfalls nur unverändertes Piperidin isoliert werden. Benzopersäure in Chloroform oxydiert Piperidin zu Schmierem.

Das nach Wolfenstein durch Erhitzen mit festem Kaliumhydroxyd dargestellte Präparat von „Piperidein“ kristallisierte nicht und enthielt nach dem Ergebnis der Kondensation mit *o*-Amino-benzaldehyd nur 35% Polypiperideine, im wesentlichen *a*-Tripperidein.

Durch mehrstündiges Erhitzen mit 80proz. oder konz. Schwefelsäure läßt sich *N*-Oxypiperidin nicht in Piperidein überführen; es konnte nur etwa 48% d. Th. Piperidin isoliert werden. Erhitzen von *N*-Oxy-piperidin mit 1 Mol Natriumalkoholat in Alkohol und Abdestillieren ergab gleichfalls als einzig identifizierbares Reaktionsprodukt Piperidin. *N*-Oxy-piperidin hat demnach ebenso wie *N*-Chlor-piperidin die Neigung, in Piperidin überzugehen.

Darstellung von α,β -Dipiperidyl und Epi- α,β -dipiperidyl (XXII) durch katalytische Hydrierung von α,β -Dipyridyl (II.)

Zur Gewinnung von α,β -Dipyridyl wurde *m*-Phenylendiamin nach der Vorschrift von C. R. Smith⁷⁵⁾ in *m*-Phenanthrolin übergeführt, wobei es wesentlich auf die Einhaltung der Zeiten beim Anheizen und Erhitzen ankommt. Rohes, schlecht kristallisierendes Hydrat des *m*-Phenanthrolins läßt sich gut über das Nitrat reinigen, das in reichlicher Menge auskristallisierte, als 13 g rohes, einmal i. Vak. destilliertes *m*-Phenanthrolin in 30 ccm 2*n*-H₂SO₄ heiß gelöst, die Lösung mit Tierkohle geklärt und zu dem Filtrat 70 ccm 2*n*-HNO₃ zugefügt wurden. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus 2*n*-HNO₃ wurde das Nitrat schließlich farblos mit dem konstanten Schmp. 243–245° erhalten. Löst man es in heißem Wasser und gießt in eisgekühltes 2*n*-NH₃, so scheidet sich das Hydrat des *m*-Phenanthrolins in feinen, bei 65–66° schmelzenden Nadelchen ab, deren Schmp. nach dem Trocknen im Exsiccator auf 78° steigt.

Zur Überführung in die α,β -Dipyridyl-dicarbonsäure⁷⁶⁾ wurden 20,8 g reines *m*-Phenanthrolin in 600 ccm heißem Wasser geschmolzen, in 3 l Wasser gegossen, die Lösung von 48,5 g Kaliumhydroxyd in 1 l Wasser hinzugefügt und bei Zimmertemperatur die berechnete Menge gesättigter Kaliumpermanganatlösung im Laufe von 6 Stdn. zuge tropft. Nach dem Stehenlassen über Nacht wurde zum Sieden erhitzt, Permanganatlösung hinzugefügt, bis die Farbe bestehen blieb (Verbrauch insgesamt 53 g Kaliumpermanganat), der Überschuß durch eine Spur *m*-Phenanthrolin wieder entfärbt, heiß vom Mangandioxyd abgesaugt, mit Wasser nachgewaschen und das Filtrat i. Vak. auf 100 ccm eingeengt. Beim Ansäuern mit 2*n*-HCl bis gerade

⁷⁵⁾ Journ. Amer. chem. Soc. 52, 397 (1930) (C. 1930 I, 1792).

⁷⁶⁾ Vgl. Journ. Amer. chem. Soc. 53, 280 (1933) (C. 1931 I, 1761).

zur Bläuung von Kongopapier kristallisierten 86% d. Th. α,β -Dipyridyl-dicarbon-säure, die roh bei 218–219° (unter Gasentwicklung; Sintern ab 215°), nach dem Umkristallisieren aus Wasser konstant bei 219–220° unter Aufschäumen schmolz.

Die Abspaltung der Carboxylgruppen wurde durch trocknes Erhitzen auf 200 bis 205°, dann auf 290° durchgeführt, wobei jeweils gewartet wurde, bis die Gasentwicklung völlig zu Ende war. Das α,β -Dipyridyl ging bei der Vakuumdestillation bei 157–158°/14 Torr in einer Ausbeute von 60–65% d. Th. über. Das Dihydrochlorid wurde aus der Ätherlösung der Base unter Zusatz von etwas Methanol durch äther. Salzsäure kristallin gefällt. Aus der zehnfachen Menge Methanol kristallisierte es in viereckigen Platten vom konstanten Schmp. 235–236°.

Die katalytische Hydrierung wurde in der 30fachen Menge Eisessig mit 10% Platinoxid bei 50° durchgeführt. Die für 6 Mol Wasserstoff berechnete Menge wurde im Laufe von 4 Stdn. aufgenommen; dann kam die Hydrierung zum Stillstand. Nach dem Abfiltrieren von Platin wurde i. Vak. eingedampft und der gut getrocknete Rückstand mit absol. Alkohol ausgekocht. Das Hydrochlorid des α,β -Dipiperidyls blieb ungelöst zurück (70% d. Th.), während aus dem zum Auskochen verwandten Alkohol das Hydrochlorid des Epi- α,β -dipiperidyls in 30proz. Ausbeute beim Eindampfen gewonnen wurde.

Das Hydrochlorid des α,β -Dipiperidyls wurde zur völligen Reinigung aus 80proz. Alkohol umkristallisiert. Es blieb beim Erhitzen bis 350° unverändert. Die Schmp. des daraus dargestellten Pikrats, Pikrolonats, Chloroplatinats, Chloraurats, der Base und des Bis-phenylthioharnstoffs stimmten mit denen der Präparate, die aus der Hydrierung des Isotripiperideins gewonnen worden waren, überein; die Misch-Schmp. gaben keine Erniedrigung.

Das Hydrochlorid des Epi- α,β -dipiperidyls wurde durch Umkristallisieren aus absol. Alkohol unter Zusatz von Äther rein mit dem Schmp. 260–262° erhalten. Die Schmp. des daraus dargestellten Pikrats, Pikrolonats, Chloroplatinats, Chloraurats, des Hydrats der Base und des Bis-phenylthioharnstoffs stimmten praktisch mit denen der Präparate überein, die aus der Hydrierung des Isotripiperideins gewonnen worden waren; die Misch-Schmp. gaben keine Erniedrigung.

Zur Unterscheidung von α,β -Dipiperidyl und Epi- α,β -dipiperidyl sind Hydrochlorid, Pikrat, Bis-phenylthioharnstoff und beim Vorliegen nicht zu geringer Mengen die freien Basen brauchbar. Bei den Bis-phenylthioharnstoffen ist der Löslichkeitsunterschied in Alkohol bemerkenswert. Während der Bis-phenylthioharnstoff des α,β -Dipiperidyls sich aus Alkohol umkristallisieren läßt, ist der des Epi- α,β -dipiperidyls darin praktisch unlöslich. Bei den Hydrochloriden liegen die Löslichkeitsverhältnisse genau umgekehrt. Bemerkenswert ist schließlich noch der Farbunterschied der Pikrate; das des α,β -Dipiperidyls ist viel dunkler gelb als das des Epi- α,β -dipiperidyls.

Zur Kenntnis der bakteriziden Wirkung II

Über die Einwirkung von Alkylhalogeniden auf Bakteriensporen

Von Günther Endres, Fritz Hammer und Ellen Rohr

(Aus dem Chemischen Staatsinstitut der Universität Hamburg)

[Eingelaufen am 15. September 1947]

Bekanntlich vermögen viele Bakteriensporen strömenden Wasserdampf oder die Einwirkung trockener Hitze von 130° mehrere Stunden lang ohne Schaden zu ertragen. Es ist erstaunlich, daß durch diese Behandlung keine irreversible Koagulation des Zelleiweißes zustande

kommt. Zur Deutung dieser Widerstandsfähigkeit nimmt man an, daß der Zellinhalt der Spore aus salzarmen und stark entquollenem, wasserarmen Plasma besteht und gleichzeitig die Permeabilität der Sporenhaut für Wasser außerordentlich gering ist.

Orientierende Versuche über die Sporen-vernichtende Wirkung einiger gegen vegetative Keime wirksamer Verbindungen ergaben folgendes: Methyl-, Äthyl- und Propylalkohol vermögen rein oder vermischt mit Wasser während einer Einwirkungszeit von 14 Tagen Sporen von *Bac. mesentericus* nicht zu vernichten. Auch gegen Phenole wie 4-Chlor-2-n-butylphenol oder 4-Chlor-3,5-dimethylphenol sind die Sporen resistent. Ebenfalls erwiesen sich quaternäre Ammoniumsalze wie n-Dodecyl-pyridiniumchlorid oder n-Dodecyl-dimethyl-benzyl-ammoniumchlorid — gleichgültig, ob die Salze in Wasser oder organischen Lösungsmitteln gelöst waren — als wirkungslos.

Diese Befunde stehen in Übereinstimmung mit ähnlichen Ergebnissen anderer Autoren. Sie lassen unter Berücksichtigung der in der ersten Arbeit gewonnenen Vorstellungen über den Mechanismus der bakteriziden Wirkung erkennen, daß offenbar die Alkohole, gelöste Phenole und quaternären Ammoniumsalze nicht oder nicht in genügendem Ausmaß in die Sporenzelle einzudringen vermögen. Die Undurchlässigkeit der Sporenhaut scheint die Ausbildung eines genügend hohen Giftspiegels in der wässrigen Phase des Zellplasma zu verhindern. Eine Schädigung der äußeren Sporenhaut, die wahrscheinlich in gewissem Umfange durch die Alkohole oder Phenole bewirkt wird, ist für das spätere Auskeimen ohne Belang.

In der ersten Mitteilung¹⁾ haben wir für die Reihe Methyl-Butylalkohol gezeigt, daß die bakterizide Wirkung nicht durch die Konzentration der Gifte in den Plasmalipoiden bestimmt wird, sondern daß jene Reaktionen, die zur Vernichtung vegetativer Keime führen, sich in der wässrigen Phase abspielen. In der Absicht, diese Vorstellung durch Versuche mit stark narkotisch und zugleich keimschädigend wirkenden Verbindungen zu festigen, haben wir den Einfluß einer größeren Anzahl von Alkylhalogeniden bei erhöhter Temperatur auf *Bacillus-mesentericus*-Sporen untersucht.

Zuerst prüften wir das Äthyljodid, welches rein oder vermischt mit Äthylalkohol oder Benzin auf sporenhaltige Keimträger bei 56° während 6, 14 und 24 Stunden zur Einwirkung gebracht wurde.

Für unsere Untersuchung wurden Reinkulturen von *Bac. mesentericus*-Sporen verwandt, deren Dampfresistenz — gemessen im Ohlmüllerschen Apparat — durchschnittlich 3—4 Stunden betrug. Die Sporen wurden auf Weizenextrakt-Agarplatten nach Haider gezüchtet. Als Keimträger für das Sporenmaterial dienten etwa 15 mm lange Stücke gezwirnter Seide. Jeder Versuchsansatz wurde stets mit 5 Keimträgern beschickt, die nach der abgelaufenen Versuchszeit einzeln unter optimalen Bedingungen bebrütet wurden. Temperatur 56°.

¹⁾ A. 552, 167, (1942).

Tab. 1

g Aethyljodid	2	6	10	20	100	50	20	10
in g Aethylalkohol 96%	98	94	90	80	—	—	—	—
in g Benzin	—	—	—	—	—	50	80	90
Einwirkungszeit	6 Std.	5+	5+	5+	5—	5+	5+	5+
	14 „	5+	5+	5—	5—	5+	5+	5+
	24 „	5+	5—	5—	5—	5+	5+	5+

5—: Alle 5 Keimträger enthielten nicht mehr keimfähige Sporen.

5+: Alle 5 Keimträger enthielten keimfähige Sporen.

Wie die Tab. 1 zeigt, sind in einer Lösung, die 6 g Aethyljodid und 94 g Alkohol enthält, nach 24 Stunden sämtliche Sporen abgetötet. Bei höherem Aethyljodidgehalt tritt die Vernichtung schon nach 6 Stunden ein, während reines Aethyljodid und seine Verdünnungen mit Benzin unwirksam sind.

Bei Zimmertemperatur sind Aethyljodid und die anderen untersuchten Halogenide nicht imstande, die Zellen irreversibel so zu schädigen, daß ein Auskeimen der Sporen unterbleibt.

In alkoholischer Lösung wird Aethyljodid bei 60° in merklichem Ausmaß hydrolytisch gespalten, was zur Folge hat, daß nach Versuchsende in den Lösungen Jodwasserstoffsäure und als Sekundärprodukt auch Jod vorhanden ist. Der Säuregehalt beträgt $\frac{1}{100}$ und mehr.

Der Befund nun, daß Aethyljodid-Benzingemische unwirksam sind, ließ daran denken, daß die Keimvernichtung auf die in alkoholischer Lösung vorhandene Mineralsäure zurückzuführen ist. Hierfür sprach auch der Umstand, daß die Sporen von *Bac. mesentericus* durch jene Säurekonzentrationen, wie sie unter den gewählten Versuchsbedingungen auftreten, stark geschädigt werden. In Parallelversuchen haben wir festgestellt, daß alkoholische Lösungen von Halogenwasserstoffsäuren mit einem Gehalt von $\frac{1}{50}$ und höher bei 60° nach einer Einwirkungszeit von 24 Stunden keimschädigende Wirkung erkennen lassen. Es läßt sich jedoch leicht zeigen, daß die Ursache für die sporizide Kraft der alkoholischen Aethyljodidlösungen nicht dem Auftreten der Jodwasserstoffsäure der Außenflüssigkeit zuzuschreiben ist. Werden nämlich die Aethyljodidversuche in Gegenwart von fester Soda durchgeführt, unter Bedingungen, durch die die Jodwasserstoffsäure zum überwiegenden Teil sofort abgefangen wird, so erreicht man trotzdem einen vollen Sterilisationserfolg (Tab. 2).

In den Versuchen mit Na_2CO_3 werden zur Neutralisation von 10 ccm Lösung nur 0,18 bzw. 0,23 $\frac{1}{10}$ Natronlauge verbraucht. Da diese Säuremengen in der alkoholischen Lösung, die die Sporen unspült, völlig unschädlich sind, muß hier allein das Aethyljodid für die Sterilisationswirkung verantwortlich gemacht werden. In den Versuchen ohne Sodazusatz ist natürlich das bakteriologische Ergebnis durch die entstandenen Jodwasserstoffsäuren mitbedingt, also offensichtlich das Resultat zweier Faktoren.

Tab. 2

Dauer 24 Stunden, 60°, Dampfresistenz 3 Stunden.

g Äthyljodid	6	10	6	10
g Äthylalkohol (95%)	94	90	94	90
g Na ₂ CO ₃ wasserfrei	—	—	5	5
n/10-KOH für 10 cem Lösg.	1,9	3,4	0,18	0,23
n/10-Na ₂ S ₂ O ₃ für 10 cem Lösg.	0,41	0,52	—	—
Bakt. Ergebnis.	5—	5—	5—	5—

Die sporizide Wirkung von weiteren 8 Alkyl- und Alkylenhalogeniden in Alkohol ist der Tab. 3 zu entnehmen.

Die Verbindungen sind nach ihrer Wirksamkeit geordnet. Die Aufstellung läßt erkennen, daß die sporizide Kraft der Alkylhalogenide mit der Beweglichkeit der Halogenatome ansteigt. Die Wirkung auf Sporen nimmt mit der Labilität der Kohlenstoff-Halogenbindung zu. Während beispielsweise n-Butylchlorid in alkoholischer Lösung un-

Tab. 3

Alkylhalogenide in Alkohol (96%), T. = 56°, Dauer: 24 Std., Dampfresistenz: 3—4 Std.

g in 100 cem	0,2	0,5	1	2	5	10	20	50
n-Butylchlorid . . .					5+	5+	5+	5+
n-Butylbromid . . .				5+	5+	3+ 2—	5—	
n-Propylbromid . . .				5+	4+ 1—	5—	5—	
n-Propyljodid . . .			5+	5+	5—	5—		
Äthyljodid			5+	5+	5—	5—		
Benzylchlorid . . .		5+	5+	2+ 3—	5—			
Allylbromid	5+	2+ 3—	5—	5—				
n-Crotylchlorid . . .	5+	5—	5—	5—				

wirksam ist, zeigt das n-Crotylchlorid, dessen Chloratom durch die Doppelbindung aktiviert ist, eine besonders hohe Wirksamkeit. Zu demselben Ergebnis führt ein Vergleich zwischen n-Propylbromid und dem viel wirksameren Allylbromid, das viel rascher in Alkohol und Bromwasserstoffsäure hydrolysiert zu werden vermag.

In der Tab. 4 sind in der Spalte I die sporiziden Minimalkonzentrationen und in der Spalte II die nach Versuchsende vorhandenen Säuremengen bzw. die zur Neutralisation von 10 cem Lösung verbrauchten Mengen angegeben. T. = 60°.

Es sind in den Alkylhalogenidlösungen, in denen gerade noch völlige Sporenvernichtung erzielt werden kann, die durch Hydrolyse entstandenen Säuremengen von ähnlicher Größe. Die Grenzkonzentrationen

Tab. 4

	Sdp.	I	II	Wirksamkeit in Gegenwart von Na_2CO_3
n-Butylbromid	100	15	2,7	—
n-Propylbromid	71	7,5	2,4	+
Aethyljodid	72	5,0	1,9	+
Benzylchlorid	179	3,0	3,2	—
Allylbromid	70	0,5	1,8	+
n-Crotylchlorid	77	0,4	1,7	+

(Spalte I) bewegen sich zwischen 0,4 und 15%, d. h. die keimtötende Kraft der Verbindungen verhält sich in den Extremen wie 1:40.

Da die in den Ansätzen gebildeten Säuremengen, wie schon erwähnt, sporizid wirken, die Säurekonzentrationen also den kritischen Wert überschritten haben, wurden die Versuche in Gegenwart von wasserfreier Soda wiederholt. Von den 6 in der Tab. 4 aufgeführten Halogeniden sind vier bei Anwesenheit von Na_2CO_3 wirksam, jedoch zwei Halogenide — und zwar Butylbromid und Benzylchlorid — unwirksam. Die Keimschädigung, die man bei Verwendung alkoholischer Lösungen von Butylbromid und Benzylchlorid beobachtet (Tab. 3), wird demzufolge allein durch das-Hydrolysenprodukt, durch die gebildete Chlor- bzw. Bromwasserstoffsäure in der alkoholischen Lösung verursacht. Die Unwirksamkeit dieser Verbindungen glauben wir darauf zurückführen zu können, daß hier — nämlich bei Stoffen mit einem Siedepunkt über etwa 100° — unter den gewählten Versuchsbedingungen der Desinfizienspiegel in der Zelle infolge zu langsamer Diffusion bzw. zu geringen Dampfdruckes der Halogenide nicht die ausreichende Höhe erreicht.

Die sporizide Wirkung der vier auch in Gegenwart von Na_2CO_3 wirksamen Verbindungen nimmt in der Reihenfolge Propylbromid-Aethyljodid-Allylbromid-Crotylchlorid zu. Hieraus folgt, daß auch dann, wenn der Säureeinfluß eliminiert ist, d. h. die die Sporen umspülende alkoholische Lösung praktisch säurefrei ist, ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Keimtötung und Halogenbeweglichkeit bzw. Hydrolysen-geschwindigkeit vorhanden ist.

Die gesamten Ergebnisse scheinen uns einer einheitlichen Deutung zugänglich. Die Alkylhalogenide dringen in die Sporen ein, vorausgesetzt, daß sie bei der eingehaltenen Temperatur von 60° einen genügend hohen Dampfdruck besitzen. Als entscheidende Reaktion, die die Keimvernichtung zur Folge hat, ist die hydrolytische Spaltung der Halogenide im Sporenleib, ihr Zerfall in Alkohol und Halogenwasserstoffsäure, anzusprechen. Es verursacht alsdann die in dem konzentrierten wässrigen Plasmaeweiß freigesetzte Säure eine irreversible

Eiweißkoagulation oder zumindest eine Denaturierung, die eine spätere Peptisation bei der Keimung verhindert. Diese Vorstellung erhält ihre experimentelle Stütze durch den aufgefundenen symbaten Gang zwischen bakterizider Wirkung und Halogenbeweglichkeit. Es tritt, unabhängig von der Konstitution der Alkylhalogenide, bei ähnlicher Flüchtigkeit dann eine irreversible Sporenschädigung ein, wenn die in der Zelle gebildeten Säuremengen ein bestimmtes Ausmaß erreicht haben. Man kann die wirksamen Alkylhalogenide als spezifische Säuredonatoren ansprechen. Die sporiziden Prozesse einerseits und die narkotischen andererseits, die beide durch diese Verbindungen ausgelöst werden können, haben in ihrem Mechanismus nichts miteinander gemein. Während die narkotische Wirkung möglicherweise durch die jeweilige Konzentration der Alkylhalogenide in der lipoiden Phase der Zelle bestimmt wird und reversibel ist, wird der irreversible sporizide Effekt dieser Verbindungen sicherlich durch eine Säurebildung in der wässrigen Phase der Zelle mit nachfolgender Eiweißdenaturierung ausgelöst.

Bei dem Vorgang der Sporenvergiftung durch Alkylhalogenide, dessen Eigenart in einer gewissen Parallele zur Phosgenwirkung steht, ist sicherlich auch der Aethylalkohol nicht unbeteiligt. Darauf deutet folgender Befund hin: Eine wässrig-alkoholische Säurelösung besitzt eine wesentlich höher sporizide Kraft als eine wässrige oder alkoholische Lösung von gleichem Säuregehalt. Es ist z. B. eine $n/_{250}$ HBr-Lösung voll wirksam, sofern diese aus einem Gemisch von Wasser und Aethylalkohol besteht (Tab. 5), während für die Sporenabtötung in rein wässriger oder alkoholischer Lösung ein wesentlich größerer HBr-Gehalt benötigt wird.

Tab. 5

Bac. mesentericus. Sporen an Seide, T. = 60°, Dauer: 24 Std.

Versuch	Wasser	Aethylalkohol	HBr	H ₂ SO ₄
1	100%	0%	n/25	n/50
2	60%	40%	n/250	n/250
3	4%	96%	n/50	n/25

Die Zahlen geben diejenige Säurekonzentration wieder, bei der jeweils noch Abtötung aller Sporen der Keimträger beobachtet wurde. Dieser Effekt zeigt, daß der kritische Giftspiegel in der Spore, in diesem Falle die zur Abtötung hinreichende Säurekonzentration, durch ein Wasser-Alkoholgemisch schneller erreicht wird oder niedriger liegt. Die unterschwellige Konzentration des Aethylalkohols (Versuch 2) scheint offenbar die Wirkung der Bromwasserstoffsäure erheblich zu verstärken. Der Effekt tritt aber nur dann ein, wenn ein ausreichender Wassergehalt vorhanden ist.

Versuchsangaben. Sämtliche Versuche wurden mit *Bac. mesentericus* durchgeführt. Um Sporen von gleichmäßiger Widerstandsfähigkeit zu erhalten, wurde auf Weizenextrakt-Agar-Platten nach Haider gezüchtet und die Platten nach Impfung 3–4 Tage lang bei 37° bebrütet. Im mikroskopischen Bild waren dann fast nur noch Sporen zu finden. Der Rasen wurde mit ca. 4 cm destilliertem Wasser pro Platte abgeschwemmt und in die dichte Sporensuspension vorher ausgekochte Seidenfäden (Nr. 8a gewirnt, von Amann) gelegt. Nach etwa 15 Minuten wurden die Fäden der Suspension entnommen und in einem Vacuum-Exsiccator bei 37° rasch getrocknet. Die Dampfresistenz dieser Sporen lag im Durchschnitt zwischen 3 und 4 Stunden. Die Sporen behielten ihre Widerstandsfähigkeit während einiger Wochen Lagerung im Eisschrank bei. Für die Versuche wurden die Seidenfäden in Stücke von etwa 15 mm geschnitten.

In die Alkylhalogenidenlösungen, welche auf ihre sporizide Wirksamkeit zu prüfen waren, wurden jeweils 5 Keimträger eingebracht und die Lösungen samt den Seidenfäden gut verschlossen im Thermostaten bei 56–60° aufbewahrt. Nach den jeweils angegebenen Zeiten wurden die Keimträger unter sterilen Kautelen den Lösungen entnommen, oberflächlich mit Fließpapier von Flüssigkeitsresten befreit und jeder seidene Faden einzeln in ein Röhrchen mit Nährbouillon eingebracht. Nach 14tägiger Bebrütung bei 37° wurde das bakteriologische Ergebnis abgelesen. Zur Vermeidung von Entwicklungshemmungen wurde meist die Bouillon gewechselt und die Fäden nochmals 2 Wochen bebrütet. Bei jodhaltigen Verbindungen wurde Bouillon benutzt, die 1% Natrium-thiosulfat enthielt.

Da in dieser Arbeit nicht die übliche bakteriologische Fragestellung nach den experimentellen Bedingungen, die für eine stets sichere Sterilisation — auch bei erschwerenden Umständen — notwendig sind, zu beantworten war, sind die Versuchsbedingungen mit Vorbedacht besonders leicht gewählt. Dies ist zu beachten. Schon kleine Abweichungen in der Versuchstechnik — beispielsweise die Verwendung nicht ausgekochter Seidenfäden, oder eines anderen Trägermaterials — können das Bild verschieben, bzw. für die Aufklärung des Reaktionsmechanismus nur schwer verwertbare Ergebnisse liefern.

Beitrag zum Mechanismus der Polymerisation von Vinylverbindungen mit Diacylperoxyden

Von Leopold Horner¹⁾ und Heinz Pohl²⁾

Mit 3 Figuren im Text

[Eingelaufen am 21. Okt. 1947]

1. Einleitung

Eine charakteristische Eigenschaft der meisten Vinylverbindungen ist ihre Fähigkeit, sich zu polymerisieren. Dieser Vorgang läßt sich durch Erhitzen, besonders leicht aber unter Mitwirkung polarisierend wirkender Substanzen, wie Säuren und geeigneter Metallhalogenide, auflösen. Auch Erwärmen mit oberflächenaktiven Substanzen führt zur Polymerisation. Eine Gruppe von Verbindungen, die Peroxyde, haben

¹⁾ Meinem verehrten Lehrer, Herrn Geheimrat H. Wieland, zum 70. Geburtstag gewidmet.

²⁾ Dissertation, H. Pohl, Frankfurt a. M., 1948.

seit ihrer Einführung in die Polymerisationstechnik durch Klatte³⁾ ein erhebliches wissenschaftliches und technisches Interesse beansprucht. Besonders häufig angewandt werden die präparativ leicht zugänglichen aromatischen Diacylperoxyde, die auch in der vorliegenden Untersuchung zur Klärung des Reaktionsmechanismus herangezogen wurden.

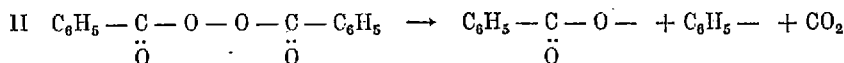
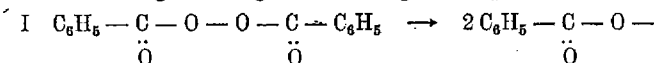
Es ist das Verdienst der reaktionskinetischen Betrachtungsweise des Polymerisationsvorganges, den verwickelten Reaktionsablauf in die drei wesentlichen Teilreaktionen aufgelöst zu haben⁴⁾:

1. Startreaktion,
2. Wachstumsreaktion,
3. Abbruchreaktion.

Die Aufgliederung der Bruttoreaktion hat sich, wie im Folgenden gezeigt wird, bei der Diskussion der peroxydkatalysierten Polymerisation sehr bewährt.

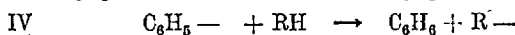
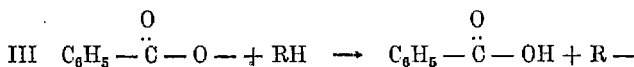
2. Das reaktive Verhalten der Diacylperoxyde

Zur erfolgreichen Behandlung des Themas schien es zweckmäßig, von der besonderen Eigenschaften der Diacylperoxyde auszugehen. Nach den Untersuchungen von Gelissen⁵⁾, Wieland⁶⁾, Boeseken und Hermanns⁷⁾ ist die Peroxydbrücke der empfindliche Bezirk dieser Substanzen. Durch thermische Behandlung von Dibenzoylperoxyd (P. O.) z. B. tritt im Sinne der Gleichung I Spaltung in zwei Benzoyl-Radikale ein oder nach Gleichung II ein Zerfall in Benzoyl- und Phenyl-Radikal unter gleichzeitiger Entbindung von CO₂.



Im Gegensatz zu den übersichtlichen Primärreaktionen I und II gestaltet sich der weitere Reaktionsverlauf wegen der besonderen Reaktivität der Radikale außerordentlich unübersichtlich. In die Mannigfaltigkeit der Reaktionsprodukte, die entscheidend durch das Reaktionsmilieu bestimmt werden, in welchem die Zersetzung der P. O. vorgenommen wird, brachten Gelissen und Hermanns Ordnung durch die Aufstellung des sogenannten RH-Schemas.

Demzufolge äußern die Radikale eine ausgesprochene Tendenz, ihre freie Valenz durch organisch gebundenen Wasserstoff oder eine andere geeignete Gruppe, z. B. Halogen, abzusättigen. Das Ergebnis dieser Sekundärumsatzung ist das neue Radikal R—, das entweder im Sinne des RH-Schemas erneut reagieren kann, oder aber mit seinesgleichen oder einem Primärradikal im Dreierstoß seinen Radikalcharakter aufgibt oder durch innermolekulare Umlagerung sich stabilisiert.



³⁾ Klatte und Rollet, DRP. 281 688 (1914).

⁴⁾ G. V. Schulz, Ztschr. physikal. Chemie (B). 30, 379 (1935).

⁵⁾ B. 58, 285 (1925).

⁶⁾ A. 513, 93 (1934).

⁷⁾ A. 519, 133 (1935).

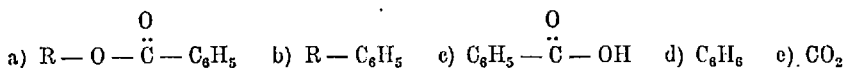
3. Über die Einwirkung der Peroxyde auf Vinylverbindungen

Wohl der erste, der sich über die peroxydkatalysierte Polymerisation genauere Vorstellungen machte und in einem Schema von Reaktionsgleichungen zusammenfaßte, war G. V. Schulz⁸⁾. Dieses Schema ist deshalb bemerkenswert, weil zum ersten Mal die Annahme gemacht wurde, daß das P. O. über einen primär gebildeten Arrheniusschen Zwischenkörper schließlich in das Polymerisationsprodukt eingebaut werden könnte. Der experimentelle Nachweis wurde etwa gleichzeitig von Kern⁹⁾ in Deutschland und Price¹⁰⁾ in Amerika durch die Anwendung gekennzeichneten P. O. erbracht. Damit war das P. O. seiner Eigenschaft als Katalysator im klassischen Sinne entkleidet, da es ja bei der Reaktion laufend verbraucht wird. Die Frage, in welcher Form das P. O. in das Polymere eingeht, wurde von Barlett und Cohen¹¹⁾ experimentell beantwortet. Durch Verseifung von Polystyrol, das mit gekennzeichneten Peroxyden dargestellt worden war, konnten sie die dem Peroxyd zugrunde liegende substituierte Benzoessäure isolieren und damit den Nachweis erbringen, daß Spaltstücke des P. O. wenigstens teilweise als Estergruppen am Polystyrol verankert sind. Diese Forscher konnten auch wahrscheinlich machen, daß weitere Bruchstücke des Peroxyds in unverseifbarer Form, wahrscheinlich als substituierte Phenylgruppen, direkt an das Polystyrol gebunden sind.

Nach diesem Einblick war es naheliegend, den Polymerisationsablauf im Zusammenhang mit den Zerfallsreaktionen der P. O. zu betrachten. Price und Tate¹²⁾ stellten ein entsprechendes Reaktionsschema auf.

4. Die Natur der Peroxydbruchstücke und ihre analytische Erfassung

Es ist einleuchtend, daß man den Reaktionsmechanismus ergründen und zuverlässige Aussagen über den Aufbau des Polymeren dann machen kann, wenn man die Natur der Zerfallsprodukte der P. O. in qualitativer und quantitativer Hinsicht kennt. Bei Berücksichtigung der Ergebnisse von Barlett und Cohen, sowie bei Annahme eines Reaktionsablaufs im Sinne des R-H-Schemas müßten mit Benzoylperoxyd als Beschleuniger folgende funktionelle Gruppen und Verbindungen nachgewiesen werden können:



⁸⁾ Ztschr. physikal. Chemie (B) **39**, 246 (1938).

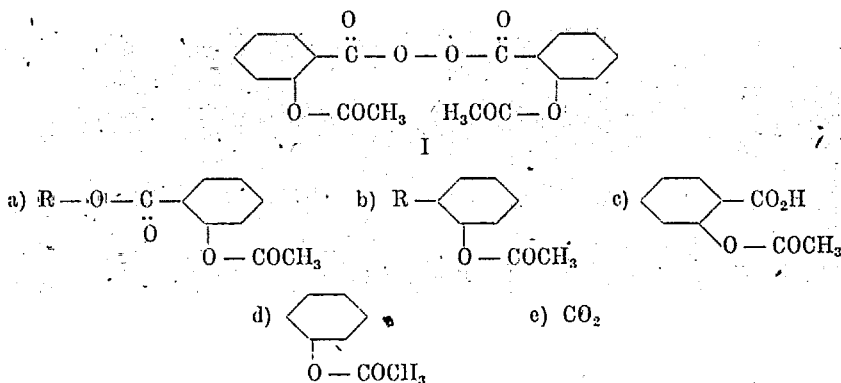
⁹⁾ J. prakt. Chem. [2] **161**, 81 (1942).

¹⁰⁾ J. Amer. chem. Soc. **64**, 1103 (1942).

¹¹⁾ J. Amer. chem. Soc. **65**, 543 (1943).

¹²⁾ J. Amer. chem. Soc. **65**, 517 (1943).

Der qualitative und quantitative Nachweis der Peroxydspaltstücke war uns möglich nach Einführung eines geeigneten gekennzeichneten Peroxyds und zwar durch Anwendung des von Uhlfelder und Vaino¹³⁾ hergestellten Acetylsalicylsäureperoxyds (A. P. O. [I]). Neben der besonderen Eignung zum Nachweis der unten angegebenen P. O.-Bruchstücke a—e muß ein besonderes Augenmerk darauf gerichtet werden, daß die Kenngruppe keine Inhibitorwirkung ausübt. Aus diesem Grunde verbietet sich die Anwendung von P. O. mit Nitro- oder Amino-gruppen. Das analytische Problem besteht also in der quantitativen Erfassung folgender P.O.-Spaltstücke:



Die Abtrennung der Acetylsalicylsäure (c) geht glatt und erfolgt am besten durch Ausschütteln mit 2 n Soda. Das Phenylacetat (d) wird zusammen mit dem als Lösungsmittel angewandten Toluol mit Wasserdampf abgetrieben, alkalisch verseift, und das Phenol als Tribrom-Phenolbrom titriert. Mit ausreichender Genauigkeit kann der esterartig gebundene Anteil des P.O. (a) bestimmt werden. Durch eine vorsichtig geführte Alkalischmelze erhält man Salicylsäure, die wiederum nach sicheren Methoden erfaßt werden kann. Die letzte Komponente (b) wird im Differenzverfahren, allerdings mit weniger großer Genauigkeit, festgelegt. Die gesamte bei der Verseifung entstehende Essigsäure ist nämlich ein Maß für die Summe von (a) und (b). Durch Subtraktion des als Salicylsäure bestimmten Anteils bleibt ein Betrag übrig, welcher dem Anteil (b) entspricht. Die Werte fallen etwas zu niedrig aus; doch lassen sich die richtigen Werte von (b), wie weiter unten ausgeführt wird, genau aus der Menge an Kohlensäure ermitteln, die ebenfalls in erheblichem Umfang bei der Polymerisation entbunden wird.

Entscheidend für die Klärung der Polymerisationsvorgänge war neben der Wahl eines geeigneten P. O. die einwandfreie und saubere Bestimmung des Gewichts an Polymerem, das zur Berechnung des Molekulargewichts aus den Endgruppen in genügender Genauigkeit bekannt sein muß.

In allen uns zugänglichen Veröffentlichungen wurden das Polymere immer nur durch Ausfällen mit Alkohol abgetrennt. Es bedarf keines

- ¹³⁾ Pharm. Ztg., 47, 847 (1902).

besonderen Hinweises, daß eine derartige Aufarbeitungsmethode immer mit Substanzverlust verbunden ist. Ein weiterer Übelstand ist die quantitative Entfernung des Lösungsmittels, das an dem polymeren Substrat sehr hartnäckig zu haften pflegt. Wie durch Kontrollversuche festgestellt wurde, gelingt es durch genügend lange Wasserdampfdestillation, alle flüchtigen Bestandteile, insbesondere überschüssiges Monomeres, quantitativ zu entfernen. Die Polyvinylverbindung kann dann direkt für alle erforderlichen analytischen Bestimmungen verwendet werden.

5. Die Bilanz und der quantitative Anteil der einzelnen Peroxyd-Spaltstücke an den Endgruppen

Wenn man die grundlegenden Umsetzungen der Peroxyde unter den verschiedensten äußeren Bedingungen verfolgt, die von Wieland⁴⁾, Gelissen und Hermanns⁵⁾ durchgeführt wurden, so findet man in den seltensten Fällen eine 100proz. Bilanz, d. h., man findet nur selten alles eingesetzte Peroxyd in Form von definierten Spaltstücken wieder. Es war um so überraschender, als dies mit Hilfe unseres Acetylsalicylsäureperoxyds ohne weiteres gelang. Wenn man den in Abschnitt 4 beschriebenen Aufarbeitungsgang einhält und genau arbeitet, so erhält man die in Tab. 1 zusammengestellten Werte, die alle mit großer Genauigkeit reproduzierbar sind, sofern man die äußeren Bedingungen der Reaktion, insbesondere Temperatur, Erhitzungsdauer und Konzentration an Styrol, konstant hält.

Tab. 1¹⁴⁾
Jeweils 20 g Styrol in 80 g Toluol. T = 120°

	A.P.O. ml Mol	G Polym.	CO ₂	Acetyl- salicyls.	Phenyl- acetat	Verseifung gebund. Acetyl- salicyls.	gebund. Phenyl- acetat	gebund. Phenyl- acetat ber.	ein- gesetzt	Bilanz gefun- den	mit geb. Phenyl- acetat ber.	Molgew. kryoskop.
1	19	20,24	5,3	4,9	0,47	28,4	3,2	4,8	38	37,0	38,6	1050
2	12,4	17,2	3,3	3,0	0,35	19,1	4,1	3,0	24,8	26,5	25,4	1330
3	4,14	10,92	1,1	0,97	0,16	6,5	0,33	0,94	8,3	8,0	8,6	2080
4	2	8,28	0,6	0,43	0,14	3,0	0,48	0,48	4,0	4,0	4,0	2800
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII

Die in der Spalte VIII stehenden Werte „gebundenes Phenylacetat berechnet“ haben eine reale Bedeutung, da, wie in Abschnitt 4 ausgeführt wurde, die experimentell bestimmten Werte für das gebundene Phenylacetat aus methodischen Gründen nicht sehr genau sind. Es ergibt sich jedoch ein einfacher und sicherer Weg, um indirekt diesen Wert genauer zu erschließen. Es muß offensichtlich die Summe aus

¹⁴⁾ Die analytisch bestimmten Werte sind in sämtlichen Tabellen in Millimol angegeben.

freiem und gebundenem Phenylacetat mit der bei der Polymerisation entbundenen Kohlensäuremenge gleich sein (vgl. Gleichung II im Abschnitt 2). Man kann also umgekehrt das gebundene Phenylacetat als Differenz der genau bestimmbaren Kohlensäure und dem ebenfalls sicher erfaßbaren freien Phenylacetat ermitteln. Wenn man diese korrigierten Werte für das gebundene Phenylacetat einsetzt, so erhält man, wie der Vergleich der Spalten IX und XI ergibt, eine gute Übereinstimmung. Dieser Tatbestand weist aber darauf hin, daß die bei der Polymerisation ablaufenden reaktionskinetischen Vorgänge einfach sind und vielleicht einer durchsichtigen Deutung zugänglich sein könnten. So kommt, wie vorweggenommen werden soll, die in erheblichen Mengen isolierbare freie Acetylsalicylsäure und das deutlich nachweisbare freie Phenylacetat, wie im Abschnitt 6 ausgeführt wird, mit großer Wahrscheinlichkeit durch den Ablauf einer Reaktion nach dem RH-Schema zustande.

Aus der Tab. 1 läßt sich ohne weiteres durch einen Vergleich der Spalten IV und V mit IX ablesen, daß das RH-Schema mit o-Acetylbenzoxyl zu etwa 10% und mit seinem Decarboxylierungsprodukt nur zu etwa 1% zum Zuge kommt: An erster Stelle steht in quantitativer Hinsicht das esterartig gebundene o-Acetylbenzoxyl, das etwa 75% aller Endgruppen stellt, an zweiter Stelle mit etwa 12% das direkt mit dem Polymeren verknüpfte Acetylphenyl-Radikal.

In recht guter Übereinstimmung mit den in der Tab. 1 niedergelegten Werten für die Endgruppen stehen die Ergebnisse der Verbrenungsanalyse. Beim reinen Polystyrol müßten sich die C- und H-Werte auf 100 ergänzen. Bei der mit Peroxyd beschleunigten Polymerisation dagegen werden sauerstoffhaltige Endgruppen eingebaut, deren Anwesenheit und Menge durch die Differenz der Summe aus C und H gegen 100 qualitativ und quantitativ ermittelt und mit den nach den präparativen Verfahren gefundenen Endgruppen direkt verglichen werden kann. Aus Tab. 2 sind die entsprechenden Werte zu entnehmen. Man kann aus den C-, H-, O-Werten Summenformeln errechnen, welche die mittlere Zusammensetzung des Polymeren wiedergeben.

Tab. 2

	A. P. O. m. Mol	C %	H %	O % gef.	O % ber.	Summenformel
1	19	83,81	6,76	9,4	9,5	$C_{73}H_{72}O_8$ (1045)
2	12,4	85,63	6,98	7,4	7,8	$C_{95}H_{94}O_8$ (1330)
3	4,14	88,55	7,33	4,1	3,9	$C_{153}H_{152}O_{8,4}$ (2076)

Ein ganz entsprechender Vergleich läßt sich bei den mit Benzoylperoxyd und Styrol erhaltenen Polymeren anstellen. In Tab. 3 sind die Endgruppenwerte zusammengestellt, die der Berechnung des Sauerstoffgehaltes zugrundegelegt sind (Tab. 4).

Tab. 3
Jeweils 20 g Styrol in 80 g Toluol

	B. P. O. m. Mol	G g	CO ₂	freie Benzoe- säure	geb. Benzoe- säure	Molgewicht kryosk.
5	19	18,75	17,3	3,7	14,0	1050
6	12,4	16,6	12,8	2,2	9,2	1270
7	4,14	10,8	4,4	0,58	3,2	2300

Tab. 4

	B. P. O. m. Mol	C %	H %	O % gef.	O % ber.	Summenformel
5	19	90,19	7,36	2,4	2,4	C ₇₉ H ₇₈ O _{1,6} (1050)
6	12,4	90,49	7,40	2,1	1,8	C ₉₆ H ₉₄ O _{1,7} (1273)
7	4,14	91,35	7,63	1,0	0,95	C ₁₇₆ H ₁₇₆ O _{1,5} (2300)

6. Nachweis der ungesättigten Natur des Polystyrols

In der Literatur wurde in den verfloßenen 20 Jahren eine heftige Debatte über die Anwesenheit olefinischer Doppelbindungen im Polystyrol geführt. Staudinger¹⁵⁾ weist in verschiedenen Veröffentlichungen darauf hin, daß sich aliphatische Doppelbindungen nach den üblichen Bestimmungsmethoden nicht nachweisen lassen. Auch Signer¹⁶⁾ gelingt es nicht, mit Hilfe der Raman-Spektroskopie Doppelbindungen nachzuweisen.

Aus anderen Arbeiten scheint allerdings hervorzugehen, daß die Nachweisbarkeit einer Doppelbindung eine Funktion der Molekülgröße ist; denn wie Staudinger selbst sagt „scheinen hemikolloide Polystyrole pro Mol eine Doppelbindung zu besitzen“¹⁷⁾. In einer weiteren Arbeit findet Staudinger¹⁸⁾, daß die durch Erhitzen mit Fluoräther, Titan-tetrachlorid und Borfluorid erhaltenen Dimeren ungesättigter Natur sind, während Zimmtetrachlorid nur ein gesättigtes dimeres Styrol

¹⁵⁾ B. 59, 3034 (1926); 62, 253, 2918 (1929).

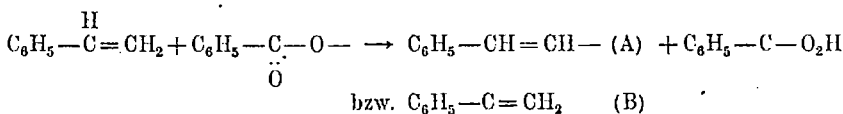
¹⁶⁾ Helv. chim. Acta. 15, 649 (1932).

¹⁷⁾ A. 517, 45 (1935).

¹⁸⁾ B. 62, 442 (1929).

liefern soll. Weiterhin diskutiert Staudinger¹⁹⁾ eine Kettenabbruchreaktion unter Disproportionierung und gibt damit wiederum zu, daß grundsätzlich nichts gegen die Anwesenheit einer endständigen Doppelbindung spricht. Dieser Literaturquerschnitt läßt die An- oder Abwesenheit einer Doppelbindung zumindest offen und macht ihren Nachweis zu einem analytischen Problem.

Die Erfassung einer endständigen Doppelbindung ist uns nach der üblichen Bromierungsmethode sowie auf präparativem Wege durch Oxydation mit Kaliumpermanganat in Aceton geglückt. Bei der Bromierungsmethode wurde der durch Substitution entbundene Bromwasserstoff bestimmt und vom Gesamt-Bromverbrauch in Abzug gebracht. Es bleibt dann ein Bromanteil, welcher ausschließlich durch Addition erklärt werden kann und ein direktes Maß für den Betrag an ungesättigten Bindungen darstellt. Wenn man den molaren Doppelbindungsanteil mit anderen zugänglichen Werten vergleicht, so findet man bei sämtlichen Peroxydkonzentrationen und unabhängig von der Natur des Monomeren eine bemerkenswerte Übereinstimmung mit der freien, dem Peroxyd zugrunde liegenden Säure, bei Anwendung von Benzoylperoxyd also mit Benzoesäure. Diese Beziehung gibt aber den Schlüssel für die Entstehung und den Beweis für die endständige Lage der Doppelbindung in unserem Polystyrol. Die Tatsache, daß sich Doppelbindungsanteil im Polystyrol und freie Säure wie 1:1 verhalten, spricht offensichtlich dafür, daß Peroxyd und Styrol im Sinne des R.H-Schemas reagieren haben^{19a)}.



Das Styryl-Radikal wird damit zum Keim einer neuen Polymerisationskette und gibt — die Richtigkeit dieser Anschauung vorausgesetzt — einen sehr starken Hinweis für die endständige Lage der Doppelbindung. Diese Schlußfolgerung wird durch das Ergebnis der Permanganatoxydation in Aceton eindeutig gestützt. Es lassen sich nämlich bei der Aufarbeitung der Oxydationslösung erhebliche Mengen Benzoesäure isolieren, welche nur aus der endständigen Struktur (A) des Polystyrols hervorgehen kann, da durch erschöpfende Wasserdampfdestillation die Abwesenheit von monomerem Styrol garantiert ist. Gemessen an dem durch Bromtitration ermittelten Werten für den Doppelbindungsanteil werden auf präparativem Wege ungefähr 50% als Oxydations-Benzoesäure isoliert, womit wenigstens 50% aller ungesättigten

¹⁹⁾ A. 517, 43 (1935).

^{19a)} Die endständige Doppelbindung könnte eventuell auch beim Abbruch durch eine Disproportionierungsreaktion zwischen wachsender Kette und P.O.-spaltstück gebildet werden.

Polystyrolmolekeln mit der Struktur (A) auszustatten sind. Die restlichen mit Doppelbindungen bestückten Polystyrolmolekeln könnten die Struktur (B) als Endgruppen besitzen oder, was wahrscheinlicher ist, ebenfalls den Styrolrest in der Anordnung (A) enthalten, der aber der Oxydation anheimfällt; denn bei der Aufarbeitung der Oxydationsansätze lassen sich erhebliche Mengen an freier Kohlensäure nachweisen, bei deren Berücksichtigung Werte für die Benzoesäure erhalten werden, welche zumindest bei den hohen Peroxydkonzentrationen in guter Übereinstimmung mit dem Doppelbindungsanteil und damit der freien Benzoesäure stehen. Als letzter Beweis für die Unterbringung der Doppelbindung am Ende der Polystyrolmolekel kann der Vergleich der Molgewichte vor und nach der Oxydation gelten. Das kryoskopisch bestimmte Molekulargewicht bleibt nämlich durch die Oxydation unberührt. Demnach ist die Unterbringung der Doppelbindung im Innern der Polystyrolkette abzulehnen.

In Tab. 5 sind die Werte für drei bei verschiedenen Konzentrationen von Benzoylperoxyd durchgeführte Polymerisationen von Polystyrol niedergelegt.

Tab. 5

	B. P. O. m. Mol	durch Bromierung	Freie Benzoesäure	Benzoesäure aus Oxydation	CO ₂ minus Blindwert	Gesamt- menge an Oxydations- benzoesäure.
5	19,	4,0	3,7	2,3	6,1	3,2
6	12,4	2,3	2,2	1,5	4,2	2,1
7	4,14	0,8	0,58	0,49	1,5	0,71

Die mit Acetylsalicylsäureperoxyd erhaltenen Styrolpolymerisate ließen eine Bestimmung des Doppelbindungsanteils nach der Bromierungsmethode nicht zu, da durch die Einführung der Acetylgruppe in den Benzolkern die Substitution des Broms in den Endgruppen derartig in den Vordergrund tritt, daß der Additionsanteil nicht mehr sicher bestimmt werden kann.

In Tab. 6 wird bei verschiedenen Peroxydkonzentrationen ein Vergleich zwischen freier Acetylsalicylsäure, Oxydationsbenzoesäure und den Molgewichten vor und nach der Oxydation gegeben.

Tab. 6

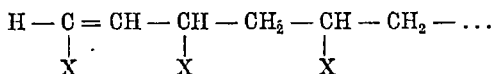
	A. P. O. m. Mol	Freie Acetyl- salicylsäure.	Oxyd.- Benzoe- säure	CO ₂ minus Blindwert	Gesamt- menge an Oxyd.- Benzoe- säure	Molgewichte	
						vor der Oxy- dation	nach der Oxy- dation
1	19	4,9	2,4	17,2	4,8	1050	1020
2	12,4	3,0	1,4	11,8	3,1	1330	1340
3	4,14	0,97	0,8	6,6	1,7	2080	2080
4	2	0,43	0,3	5,9	1,1	2800	2950

In Tab. 7 wird an geeigneten Vinylverbindungen, die mit Benzoylperoxyd polymerisiert wurden, gezeigt, daß auch in diesen Beispielen eine befriedigende Übereinstimmung zwischen dem nach dem Bromierungsverfahren ermittelten Doppelbindungsanteil und der freien Benzoesäure besteht.

Tab. 7

		Monomeres (jeweils in 80 g Toluol)	B. P. O.	Freie Benzoesäure	durch Bromierung
8	Acrylester	19,23	19	4,2	3,8
8a	Acrylester	19,23	12,4	3,1	3,3
9	Vinylacetat	16,53	19	5,7	5,7
9a	Vinylacetat	16,53	12,4	3,8	4,2
10	Inden	22,31	19	4,7	7,9
10a	Inden	22,31	12,4	3,3	4,2

Es ist danach so gut wie sicher, daß die mit Peroxyd polymerisierten Vinylverbindungen eine Doppelbindung enthalten und außerordentlich wahrscheinlich, daß die Doppelbindung durch einen Reaktionsablauf im Sinne des RH-Schemas zustande kommt und deshalb endständig liegt. Ein Teil der Moleküle — und zwar wie aus einem Vergleich der Spalten IV und IX der Tab. 1 hervorgeht, etwa 11% — enthalten also folgende Struktur:



7. Der Reaktionsmechanismus

Ein Reaktionsmechanismus kann wenigstens innerhalb eines gewissen Bereiches dann als gesichert angesehen werden, wenn es gelingt, mit seiner Hilfe die richtigen Molgewichte zu berechnen. In welchen Grenzen dies möglich ist, geht aus den nachstehenden Abschnitten hervor.

Durch die analytischen Untersuchungen, die in den Abschnitten 4 und 5 besprochen wurden, können zwei Spaltstücke des P. O. sowie die endständige Doppelbindung als Endgruppe gesichert gelten. Die Tatsache, daß 75% der verfügbaren Spaltstücke des Peroxyds als esterartig verknüpfte Acetylsalicylsäure vorliegen, spricht dafür, daß mindestens die Hälfte aller Moleküle zwei Benzoxyle als Endgruppen tragen. Das bedeutet aber, daß sowohl Start wie Abbruch mit dem Einbau eines Peroxydbruchstückes verknüpft sind. Besonders die Abbruchreaktion muß in ihrem Verlaufe richtig gedeutet werden, da in dieser letzten Phase der Reaktion das Wachstum der Kette abgebrochen und damit die Molekülgröße bestimmt wird. Wie G. V. Schulz⁸⁾

nachweisen konnte, besteht zwischen mittlerem Molgewicht und Peroxydkonzentration folgende Gleichung:

$$M = \frac{k}{\sqrt{PO}}$$

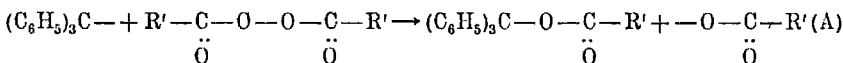
M = mittleres Molgewicht
PO = Peroxydkonzentration
k = Konstante.

Auch aus dieser Beziehung geht hervor, daß Start und Abbruch der Polystyrolkette weitgehend durch die Peroxydkonzentration beherrscht werden.

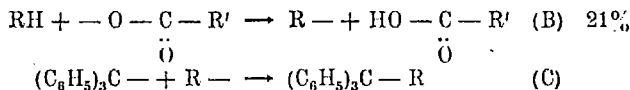
Den Start der Reaktion kann man in Übereinstimmung mit anderen Bearbeitern des Gebietes in einer direkten Anlagerung der auf thermischem Wege erzeugten primären Spaltprodukte des P.O. an das Styrol sehen. Durch einseitige Bindung des Radikals an die Vinylgruppe wird ein neues Radikal geschaffen, welches in der zweiten Phase der Reaktion unter Erhaltung des Radikalzustandes solange Monomeres anlagert, bis der Abbruch der Kette erfolgt. Während dieser Reaktionstyp für den Start allgemein anerkannt wird, gehen die Meinungen über den Abbruch der Reaktion allgemein auseinander.

Ohne hinreichenden Beweis wurde von Staudinger¹⁹⁾, G. V. Schulz⁸⁾ und Price¹²⁾ der Abbruch immer nur durch Disproportionierung bzw. durch direkte Absättigung zweier wachsender Ketten formuliert. Die von G. V. Schulz gefundene Beziehung zwischen Molekülgröße und P.O.-Konzentration steht aber mit diesen beiden Deutungen nur in indirektem und wenig durchsichtigem Zusammenhang. Nachstehende Formulierung stellt nun eine direkte Verknüpfung von Molekülgröße und P.O.-Konzentration her. Unser Deutungsversuch lehnt sich eng an Befunde von Wieland und Indest²⁰⁾ an, welche die Umsetzung von Triphenylmethyl mit Dibenzoylperoxyd in der Kälte untersucht haben.

Sie stellten fest, daß das Triphenylmethyl die P.O.-Brücke aufsprengt, wobei sich der Triphenylmethylester der Benzoesäure zu etwa 70% bildet.



In einer weiteren Umsetzung reagiert das Benzoxyl mit dem Lösungsmittel nach dem R-H-Schema unter Bildung von Benzoesäure und Erzeugung des dem Lösungsmittel R-H zugehörigen Radikals R-. Wie eindeutig nachgewiesen werden konnte, tritt das Radikal R- mit Triphenylmethyl zu dem entsprechenden tetra-substituierten Methan zusammen:



Bei unserer Deutung der Abbruchreaktion tritt anstelle des Triphenylmethyls das viel reaktionsfähigere Radikal der wachsenden

²⁰⁾ A. 532, 179 (1937); 551, 249 (1942).

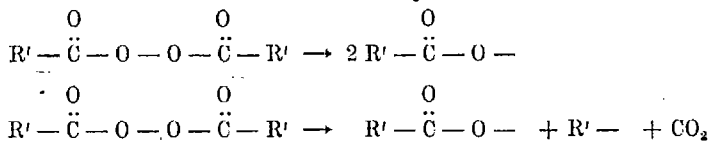
Polyvinylkette. In Analogie zur Wielandschen Umsetzung kann dann mit Leichtigkeit die Spaltung des P.O. an seiner Brücke unter gleichzeitiger Stabilisierung der wachsenden Kette durch Einbau eines Benzoxyls eintreten (Vgl. A).

Das zweite P.O.-Bruchstück steht als Radikal für die erneute Auslösung eines Primäraktes zur Verfügung. Auch die Reaktion B findet in unserer Deutung des Polymerisationsablaufs ihre Parallele. Ein Teil des nicht direkt als Kettenstarter reagierenden Benzoxyls geht eine R_H-Reaktion ein, wobei das Vinylradikal und die äquivalente Menge Benzoesäure entstehen. Das Radikal R— wirkt ebenfalls als Keim für erneute Polymerisation. Die Analogie zur Reaktion A und B liegt auf der Hand.

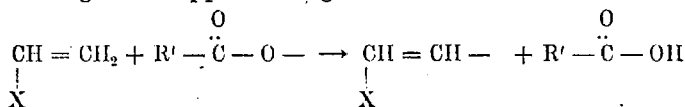
Nur in einer einzigen Hinsicht hinkt der Vergleich. Die Wielandsche Umsetzung vollzieht sich bereits bei Zimmertemperatur und ohne Entbindung von Kohlensäure. Bei unserer Arbeitsweise (120°) entstehen jedoch erhebliche Beträge an Kohlensäure, deren Menge, wie anschließend gezeigt wird, stark von der Natur des Monomeren abhängt.

Der Mechanismus der Polymerisation läßt sich demnach in folgende Gleichungen kleiden, wobei der Startreaktion vorgelagert ist:

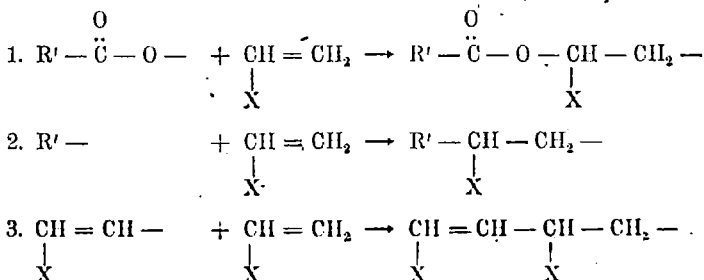
a) der thermische Zerfall des Peroxyds



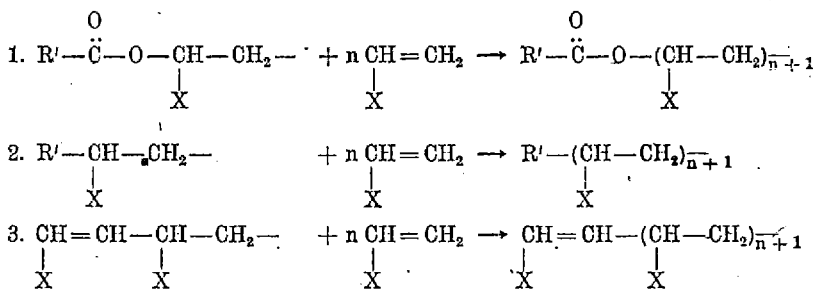
b) Bildung der Doppelbindung durch die R_H-Reaktion



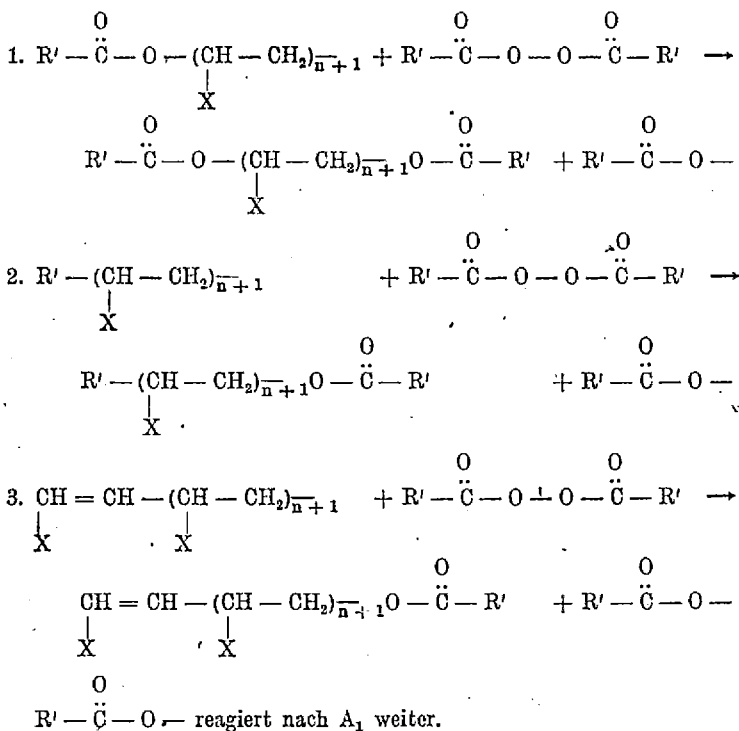
A. Startreaktion



B. Wachstumsreaktion



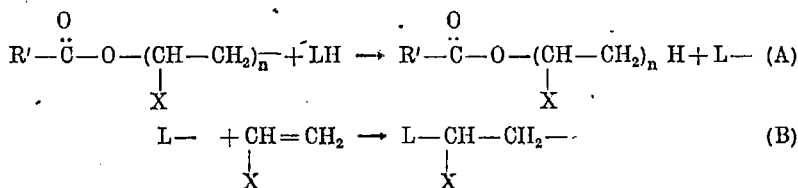
C. Abbruchreaktion



Diese Formulierung des Polymerisationsablaufs hat im Gegensatz zu den bisher veröffentlichten Mechanismen den großen Vorzug, daß die Polymerisation eine wirkliche Kettenpolymerisation darstellt, in welcher der aktive Zustand zwischen den Reaktionspartnern wechselt. In Analogie zur klassischen Chlorknallgas-Reaktion steht wie dort am Anfang die Startreaktion (vgl. A 1, 2, 3), die mit der Spaltung der Chlor-

molekel in Chloratome in Parallele gesetzt werden kann. Für die Wachstumsreaktion (B 1, 2, 3) fehlt bei der Chlorknallgas-Reaktion das entsprechende Analogon, während der Abbruch des Wachstums der Polyvinylmoleküle (C 1, 2, 3) der Spaltung einer intakten Wasserstoffmolekel durch Chloratome unter Bildung von Chlorwasserstoff und atomarem Wasserstoff weitgehend ähnlich ist.

Der Gedanke, daß Abbruch und Start in einem Reaktionsschritt gekoppelt sind, ist durchaus nicht neu. So nehmen Kamenskaja und Medwedew²¹⁾ an, daß neben einer direkten Vereinigung zweier wachsender Ketten radikalartige Zwischenstufen mit dem Lösungsmittel L—H im Sinne des RH-Schemas reagieren können (A). Das neuentstandene Lösungsmittelradikal L· soll seinerseits erneut Polymerisation auslösen können und damit die Kette übertragen (B). Die kinetische Kette wäre demnach nicht mit dem Polymerisationsgrad identisch.



In der Zwischenzeit wurde von Breitenbach²²⁾ durch die Abwesenheit von Halogen in Polystyrol, das in Gegenwart von Chlorbenzol als Lösungsmittel hergestellt worden war, der Beweis erbracht, daß dieses an der Übertragungsreaktion nicht beteiligt ist. Wir haben dieses Ergebnis mit o-Dichlorbenzol als Lösungsmittel bestätigen können.

Ein weiterer Befund, der die Übertragungsreaktion stützt, wurde von G. V. Schulz²³⁾ bei der Polymerisationsauslösung durch klassische Radikale, z. B. Triphenylmethylazobenzol erhoben. Seine kinetischen Messungen deuten darauf hin, daß die Radikale nicht nur die Primärreaktion beschleunigen, sondern auch in die Abbruchreaktion eingreifen. Der gleiche Forscher kommt beim Studium des explosionsartigen Polymerisationsverlaufes des Methacrylsäuremethylesters²⁴⁾ ebenfalls zur Annahme einer Übertragungsreaktion. Demzufolge soll die wachsende Kette mit Monomerem reagieren, die als Radikal die Polymerisation weiterträgt.

Für unsere spezielle Annahme, daß die Übertragungsreaktion nicht in einer unmittelbaren Reaktion der wachsenden Kette mit Monomerem oder dem Lösungsmittel zu sehen ist, sondern in einer Wechselwirkung zwischen P.O. und wachsender Kette besteht, spricht neben der Analogie

²¹⁾ Acta physicochim. URSS 13, 565 (1940).

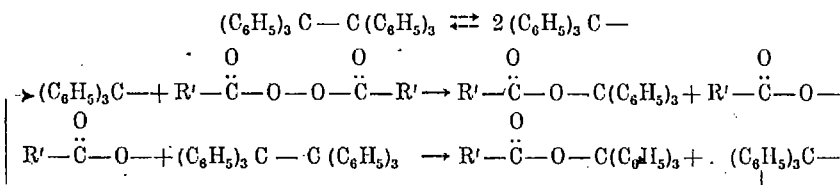
²²⁾ Naturwiss. 29, 708 (1941).

²³⁾ Naturwiss. 27, 659 (1939).

²⁴⁾ Ztschr. physikal. Chem. (B) 51, 75 (1942).

zur Wielandschen Reaktion eine wichtige Beobachtung von Kamenskaja und Medwedew²¹⁾ und Breitenbach²⁵⁾. Sie fanden durch jodometrische Bestimmung des P.O. in Abhängigkeit von der Zeit, daß seine Konzentration während der Polymerisation abnimmt. Die Abnahme des Peroxyds erfolgt aber in Gegenwart von Vinylacetat viel schneller als mit Benzol oder Toluol als Lösungsmittel, wie in Kontrollversuchen nachgewiesen wurde. Es muß also bei der Polymerisation eine P.O. verbrauchende Reaktion ablaufen.

Nachdem die Wielandsche Übertragungsreaktion in so engen Zusammenhang mit einer typischen Kettenreaktion gebracht worden ist, war es naheliegend, nun umgekehrt für die Hauptreaktion der zwischen Benzoylperoxyd und Triphenylmethyl ablaufenden Umsetzung ebenfalls einen Kettenmechanismus in Vorschlag zu bringen.



Der Kettenabbruch kommt durch die direkte Vereinigung von Benzoxyl und Triphenylmethyl zustande, wobei ein Lösungsmittelmolekül als dritter Stoßpartner und Energieableiter fungiert. Es ist nicht von der Hand zu weisen, daß diese aktivierten Lösungsmittelmolekel zusammen mit dem Peroxyd oder Hexaphenyläthan oder einem ihrer Spaltprodukte eine R_H-Reaktion eingehen. Diese Annahme ist um so einleuchtender, weil von den aus Bilanzgründen geforderten etwa 25% an freier Säure tatsächlich 21% gefunden werden.

In einer Reihe von Modellreaktionen wurde der Versuch unternommen, die Analogie zwischen den beiden Umsetzungen zu stützen und zu vertiefen. Unter Ausschluß von Luft wurde zu einer Lösung von Triphenylmethyl in Styrol Benzoylperoxyd zugesetzt. Bei allen Ansätzen erfolgte nach einigen Stunden Entfärbung des Triphenylmethyls, womit auch das Ende der Umsetzung am negativen Ausfall der Schmidtlin-schen Probe angezeigt war. Bei der Aufarbeitung erhielt man quantitativ das als Lösungsmittel angewandte Styrol zurück. Damit war bewiesen, daß Styrol nicht in den Ablauf der Umsetzung zwischen Triphenylmethyl und Peroxyd eingreifen kann, was ja eventuell über das als Zwischenkörper bei der Reaktion auftretende Benzoxyl hätte der Fall sein können. Die Ursache für diesen Reaktionsverlauf dürfte in dem bei Zimmertemperatur wesentlichen Unterschied in der Reaktivität zwischen Triphenylmethyl und Styrol zu suchen sein. P.O. und Styrol

²⁵⁾ B. 76, 272 (1943).

reagieren bei Zimmertemperatur nur außerordentlich langsam im Gegensatz zum System P.O.—Triphenylmethyl.

9. Ein vereinfachtes Verfahren zur Bestimmung der Endgruppen

Wie in Abschnitt 4 nachgewiesen wurde, treten charakteristische Spaltstücke des P.O. als esterartig gebundene oder über eine C—C-Bindung verknüpfte Endgruppen in die Polyvinylverbindung ein und aus Abschnitt 6 und 7 folgt das Vorhandensein einer endständigen Doppelbindung. Diese drei Endgruppen können, wie unser Reaktionsmechanismus zeigt, in eine eindeutige Beziehung zum intakten P.O. gesetzt werden. Die Annahme weiterer, noch unbekannter Endgruppen ist wegen der vollständigen Bilanz der P.O.-Spaltstücke auszuschließen.

Aus der Tab. 1 geht hervor, daß man mit Acetylsalicylsäureperoxyd auf direktem Wege die in das Polystyrol eingebauten Endgruppen ermitteln kann. In vielen Fällen wird auf diese analytische Bestimmungsmethode — abgesehen von ihrer Umständlichkeit — verzichtet werden müssen, da in den üblichen P.O. eine geeignete Kenngruppe fehlt. Das würde aber bedeuten, daß eine Kontrolle des Molgewichts auf chemischem Wege unmöglich wäre.

Es ist nun aus dem Reaktionsschema auf einfache Weise zu entnehmen, daß man die Menge der fraglichen Endgruppen auch auf indirektem Wege an Hand der leicht bestimmbaren anderen Spaltstücke der P.O., nämlich der entbundenen Kohlensäure und der freien, dem P.O. zugrundeliegenden Säure erfassen kann. So gibt der Reaktionsmechanismus eine klare Verknüpfung zwischen abgespaltener Kohlensäure und direkt über C—C — mit der Polyvinylverbindung verknüpfter Endgruppe (Acetylphenyl). Da die Menge an freiem Phenylacetat gering ist, gibt die Kohlensäure ein direktes Maß für die Menge an eingebautem Acetoxyphe nyl.

Genau genommen ist dieser Schluß nicht ganz zutreffend, da das freie Phenylacetat in Analogie zur freien Säure durch eine RH-Reaktion entstanden sein dürfte und somit ebenfalls einen Ausdruck für den Doppelbindungsanteil darstellt. Da bei unserer Betrachtungsweise das Hauptgewicht auf die Bilanz gelegt wird, wird der Einfachheit halber das freie Phenylacetat dem Kohlensäurewert und damit dem C—C-gebundenen zugeordnet, insbesondere auch deshalb, weil dieses Spaltstück beim nicht gekennzeichneten Peroxyd sich der Bestimmung entzieht. Damit erhöht sich der Wert des C—C-gebundenen um ein Geringes auf Kosten des Doppelbindungsanteils. Eine gleichartige Äquivalenzbeziehung wie zwischen Kohlensäure und C—C-gebundenem Anteil besteht zwischen der leicht isolierbaren freien Säure und dem Doppelbindungsgehalt. Eine Verseifung gibt Aufschluß über die Menge an esterartig gebundenem Spaltstück, wie bereits im Abschnitt 4 und 5 ausgeführt wurde.

In der Tab. 8 wird der Beweis erbracht, daß man in den untersuchten Beispielen allein durch Berücksichtigung dieser drei Werte zu einer vollständigen Bilanz gelangt.

Tab. 8

	P. O. m. Mol	CO ₂ A	Freie Säure B	Ester C	Summe A+B+C	2-P.O.	
1	19	5,3	4,9	28,4	38,6	38	} Acetylsalicylsäure-P.O.
2	12,4	3,3	3,0	19,1	25,4	24,8	
3	4,14	1,1	0,97	6,5	8,6	8,3	
4	2	0,6	0,43	3,0	4,0	4,0	
5	19	17,3	3,7	14,0	35	38	} Styrol Benzoylperoxyd
6	12,4	12,8	2,2	9,2	24,2	24,8	
7	4,14	4,4	0,58	3,2	8,2	8,3	
8	19	28,4	4,2	4,1	36,7	38	
8a	12,4	19,9	3,1	2,9	25,9	24,8	} Acrylester B. P.O. Vinylacetat B. P. O. Inden B. P.O.
9	19	20,4	5,7	6,9	33	38	
9a	12,4	13,9	3,8	5,4	23,1	24,8	
10	19	8,6	4,7	23,9	37,2	38	
10a	12,4	5,4	3,3	15,1	23,8	24,8	

Noch schneller erhält man Aufschluß über die Menge der in das Polymere eingebauten Endgruppen, wenn man den esterartig gebundenen Anteil als Differenz 2 P.O. — (CO₂ + freie Säure) berechnet, ein Verfahren, dessen Anwendungsberechtigung aus Tab. 8 hervorgeht.

Ein genaues Studium der in Tab. 8 niedergelegten Werte ergibt, daß man die Analyse noch weiter vereinfachen und die drei Werte für jede beliebige Peroxydkonzentration bei festgelegter Temperatur und

Tab. 9

	P. O. m. Mol	CO ₂ P. O.	Freie Säure P.O.	Esteranteil P.O.	
1	19	0,28	0,26	1,5	} Styrol- Acetylsalicylsäure- peroxyd
2	12,4	0,27	0,24	1,5	
3	4,14	0,27	0,23	1,6	
4	2	0,30	0,22	1,5	
5	19	0,91	0,19	0,74	} Styrol- Benzoylperoxyd
6	12,4	1,03	0,18	0,74	
7	4,14	1,06	0,14	0,77	
8	19	1,5	0,22	0,22	
8a	12,4	1,6	0,25	0,23	} Acrylester-B. P.O. Vinylacetat-B. P.O. Inden-B. P.O.
9	19	1,07	0,3	0,36	
9a	12,4	1,1	0,3	0,44	
10	19	0,45	0,25	1,26	
10a	12,4	0,44	0,26	1,22	

Styrolkonzentration auf graphischem Wege erschließen kann. Es zeigt sich nämlich, daß die Zahlenverhältnisse zwischen Kohlensäure und P.O., freier Säure und P.O. und Esteranteil und P.O. konstant sind (Tab. 9). Es besteht deshalb auch eine lineare Beziehung zwischen den entsprechenden Endgruppen im Polymeren und dem P.O., die in den Figuren 1, 2 und 3 dargestellt ist.

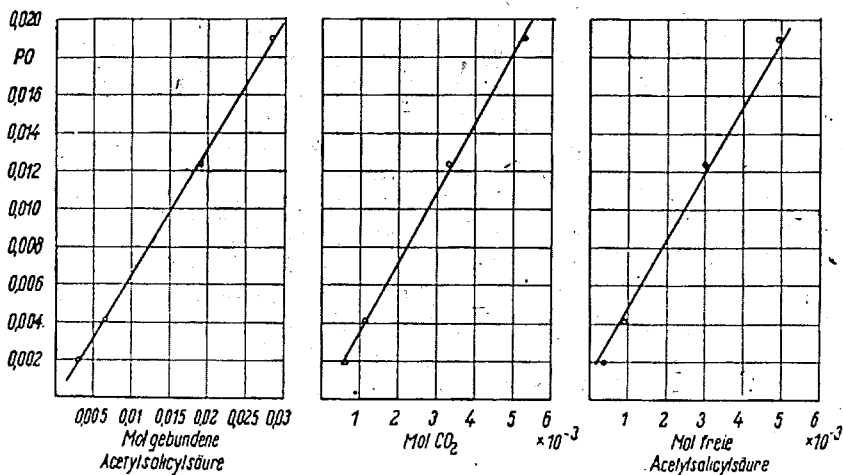
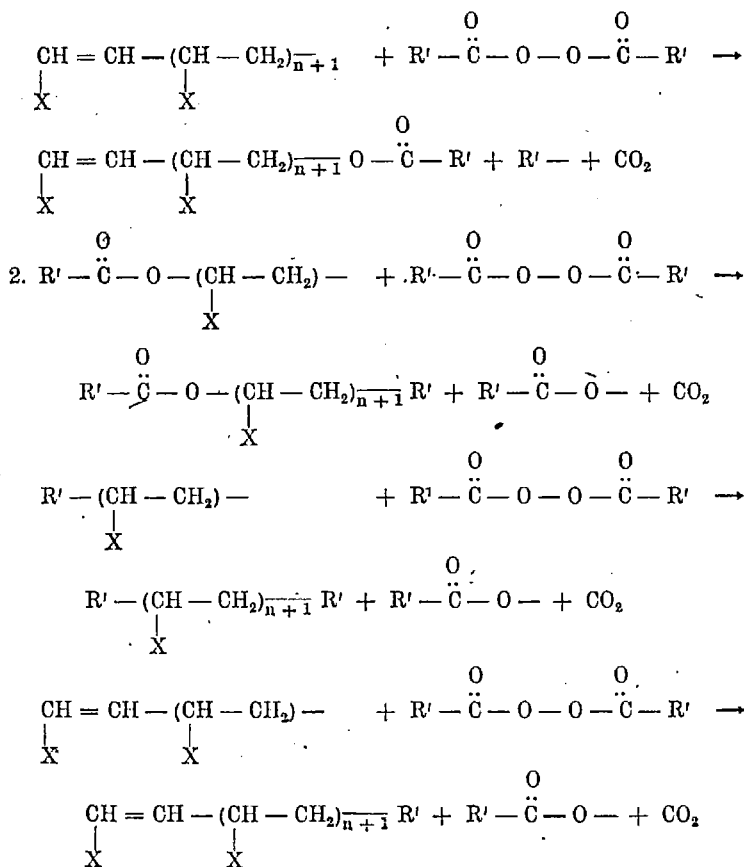


Fig. 1, 2 und 3

Es genügt also, derartige Geraden für die jeweiligen Reaktionstemperaturen und Styrolkonzentrationen aufzunehmen, um jeden beliebigen Wert dann direkt in Abhängigkeit vom bekannten P.O.-Gehalt ablesen zu können.

Die Tab. 8 und 9 erlauben weiter interessante Rückschlüsse auf die Reaktivität der Reaktionspartner im System: Vinylverbindung — P.O. Bei allen untersuchten Vinylverbindungen liegt die freie Säure und damit der Doppelbindungsanteil in der gleichen Größenordnung. Im Gegensatz hierzu sind die Kohlensäurewerte und der Esteranteil in Abhängigkeit von der Art des P.O. und von der Natur der Vinylverbindung starken Schwankungen unterworfen. Beide Werte verhalten sich reziprok zu einander. Im System Acrylester — Benzoylperoxyd ist dieses Verhältnis besonders extrem verschoben. Die Ursache für das unterschiedliche Verhalten in Abhängigkeit von einer variablen Substitution der beiden Grundstrukturen (P.O.- und Vinylgruppierung) dürfte vielleicht in einer verschiedenen Aktivierungsenergie sowohl des P.O. wie auch der Vinylverbindung zu suchen sein. Der Unterschied zwischen Acetylsalicylsäureperoxyd und Benzoylperoxyd und Styrol als Vinylkomponente wäre dann so zu deuten, daß die Re-



Eine Entscheidung zwischen 1 und 2 läßt sich experimentell vorläufig noch nicht treffen.

10. Die Berechnung der Zahl der Endgruppen

Jedes Kettenmolekül besitzt mindestens zwei Enden und muß deshalb über mindestens zwei Endgruppen verfügen. Ein erhöhter Endgruppengehalt weist auf Verzweigungen hin, ein Wert kleiner als 2 spricht — wenn man von Ringschlüssen absieht — dafür, daß nicht alle Endgruppen erfaßt wurden. Die Zahl der Endgruppen N pro Molekül läßt sich leicht nach der Formel A berechnen, wenn man das Molegewicht M , das Endgewicht G des Polymeren pro Ansatz sowie den molaren Anteil an Endgruppen kennt. Das Molegewicht wurde kryoskopisch in Benzol bestimmt und war jederzeit gut reproduzierbar. Das Endgewicht G konnte nach der erschöpfenden Wasserdampfdestillation

einwandfrei ermittelt werden, und der molare Anteil der charakteristischen Endgruppen ist nach dem schon erläuterten Aufarbeitsverfahren leicht zugänglich. Ihre absolute Größe ist, wie bereits ausgeführt, gleich 2 P. O.

$$N = \bar{M} \cdot \frac{2 [\text{PO}]}{G} \quad (\text{A})$$

In der Tab. 10 sind die mit Acetylsalicylsäureperoxyd und Styrol experimentell gefundenen Werte sowie die berechneten Werte von N zusammengestellt. Die Umsatzdauer betrug bei allen Ansätzen 60 Minuten. Toluol jeweils 80 g.

Tab. 10

	Styrol g	G g	2·A. P. O.	Molgewicht kryosk.	N
1	20	20,24	38	1050	1,97
2	20	17,2	24,8	1330	1,92
3	20	10,92	8,3	2080	1,58
4	20	8,28	4	2800	1,35

Die Tab. 11 enthält die entsprechenden Werte mit Benzoylperoxyd und Styrol, die ebenfalls nach einer Reaktionsdauer von 60 Minuten erhalten wurden.

Tab. 11

	Styrol g	G g	2·B. P. O.	Molgewicht kryosk.	N
5	20	18,75	38	1050	2,13
6	20	16,6	24,8	1270	1,90
7	20	10,8	8,3	2300	1,77

In der Tab. 12 wurden die Werte zusammengefaßt, die mit verschiedenen Vinylverbindungen und Benzoylperoxyd nach einer Umsatzdauer von 60 Minuten erhalten wurden.

Tab. 12

		Mono- meres g	G g	2·B.P.O.	Molgew. kryosk.	N
8	Acrylester	19,23	21,84	38	1600	2,8
8a	Acrylester	19,23	20,52	24,8	1830	2,2
9	Vinylacetat	16,53	11,2	38	940	3,2
9a	Vinylacetat	16,53	9,42	24,8	1010	2,6
10	Inden	22,31	5,20	38	487	2,0
10a	Inden	22,31	6,42	24,8	520	2,0

Die Werte der Tab. 10 und 11 zeigen mit fallender P.O.-Konzentration ein Absinken von N. auf Werte, die weit unter 2 liegen. Das bedeutet aber, daß entweder nicht alle im Polymerisat vorhandenen Endgruppen berücksichtigt worden sind, oder daß das Gewicht G der Polymeren zu hoch ist, z. B. durch eine gleichzeitig verlaufende thermische Polymerisation. Durch geeignete Versuchsbedingungen und Kontrollversuche konnte diese Vermutung bestätigt werden. Wenn man nämlich die Reaktionspartner, also 20 g Styrol und 80 g Toluol, unter den gleichen Versuchsbedingungen, aber ohne Peroxyd, 60 Minuten kocht, so bleiben nach der Behandlung mit Wasserdampf 0,53 g Polystyrol zurück mit einem mittleren Molgewicht von ungefähr 4 400. Damit war bewiesen, daß schon in einer Stunde, obwohl in inerte Gasphase gearbeitet wurde, die Wärmepolymerisation in merklichem Umfange abläuft. Es wurde daraufhin für die Systeme Styrol-Acetylsalicylsäureperoxyd bzw. Styrol-Benzoylperoxyd die Kochdauer wesentlich abgekürzt und die zur Berechnung von N erforderlichen Werte bestimmt. Die Werte sind aus Tab. 13 zu entnehmen.

Tab. 13

	Kochdauer in Minuten	Styrol g	2·P.O.	Molgew. kryosk.	G g	N	
3	5	20	8,3	1700	7,91	1,78	Acetyl- salicyl- säure- peroxyd
3	15	20	8,3	2000	9,20	1,80	
3	60	20	8,3	2080	10,92	1,58	
4	10	20	4	2120	6,02	1,42	
4	15	20	4	2500	6,68	1,50	
4	60	20	4	2800	8,28	1,35	Benzoyl- peroxyd
7	10	20	8,3	1760	8,15	1,79	
7	15	20	8,3	2050	9,68	1,76	
7	60	20	8,3	2300	10,8	1,77	

Es geht aus diesen Versuchen unzweifelhaft hervor, daß der P.O.-beschleunigten Polymerisation eine Wärmepolymerisation überlagert ist, die umso mehr in Erscheinung tritt, je geringer die P.O.-Konzentration und je länger die Versuchsdauer ist. Das bedeutet aber für die Errechnung von N, daß nicht nur die Werte von G zu hoch liegen, sondern daß durch die Wärmepolymerisation Endgruppen unbekannter Natur in das Polystyrol eingeführt werden, daß mit anderen Worten für das isolierte Polymere der Endgruppengehalt 2 P.O. zu niedrig ist.

Auf jeden Fall steht mit dieser Anschauung der Tatbestand in bestem Einklang, daß bei hohen P.O.-Konzentrationen N praktisch gleich 2 ist, da die Hauptmenge des Styrols bereits in den ersten Minuten polymerisiert und damit die Wärmepolymerisation wegen Mangel an Monomerem nicht mehr in Erscheinung treten kann. Ob der Anstieg des Molgewichts mit zunehmender Reaktionsdauer mit der Kinetik der Peroxydbeschleunigung zusammenhängt, soll Gegenstand weiterer Untersuchungen

sein. Auf Grund der Versuche von Breitenbach²⁶⁾ scheint ein zeitabhängiger Zusammenhang für die Molekulargewichte zu bestehen. Diese experimentellen Befunde konnten wir an einigen wenigen Beispielen bestätigen. Wir sehen darin eine weitere Gewähr für die Richtigkeit unserer Abbruchreaktion, da die anfänglich höhere P. O.-Konzentration einen häufigeren Abbruch fordert, der sich in einem Molegewicht zu erkennen geben muß, das niedriger ist als die Molekülgrößen, die nach Verbrauch wesentlicher P.O.-Mengen entstehen.

Auch G. V. Schulz²⁶⁾ kommt in seiner letzten Veröffentlichung „Über den Mechanismus des explosiven Reaktionsverlaufes des Methacrylsäuremethylesters“ zu Befunden, die sich weitgehend mit den Ergebnissen von Breitenbach decken. Er stellt fest, daß bei Konzentrationen des Monomeren, die über 40% liegen, nach einer Inkubationszeit eine Beschleunigung erfolgt, die mit einer Vergrößerung des Molekulargewichts parallel geht. Eine analoge Zeitabhängigkeit des Molegewichtes konnte von G. V. Schulz und Mitarb. bei der Blockpolymerisation des Styrols nicht festgestellt werden. Diese tritt aber bei der Emulsionspolymerisation wieder in Erscheinung. Wir sind der Meinung, daß der von uns angegebene Reaktionsmechanismus eine Diskussionsgrundlage für die beschleunigte Phase der Polymerisation des Methacrylsäuremethylesters darstellt. Nach Verbrauch wesentlicher Mengen an P.O. durch den vorgelagerten thermischen Zerfall und der damit gekoppelten Startreaktion sowie durch den Ablauf unserer Übertragungsreaktion wird die Abbruchchance immer geringer und äußert sich notwendigerweise in einem Anstieg des Molekulargewichts und, wie G. V. Schulz zeigen konnte, auch in einer Zunahme der Umsatzgeschwindigkeit an Monomerem. Nach unserer Ansicht handelt es sich bei der Polymerisation des Methacrylsäuremethylesters nicht um einen prinzipiell neuartigen „explosionsartigen“ Reaktionstyp, sondern um eine Verschiebung des Reaktionsbildes in quantitativer Hinsicht in Abhängigkeit von individuellen Eigenschaften des Monomeren.

Die Frage, die jetzt behandelt werden muß, betrifft die Abgrenzung der P.O.-beschleunigten Polymerisation von der gleichzeitig ablaufenden thermischen Polymerisation. Die Tatsache, daß das gesamte P.O. in Form definierter Endgruppen in das Polymere eingebaut wird, läßt theoretisch eine scharfe und eindeutige Trennung zwischen diesen beiden Reaktionsabläufen zu. Alle Moleküle, die P.O.-Spaltstücke und ungesättigte Endgruppen enthalten, gehören der P.O.-beschleunigten Polymerisation an, alle anderen Moleküle mit P.O.-fremden Endgruppen sind durch Wärmepolymerisation entstanden. Es wird anschließend wahrscheinlich gemacht, daß es Polyvinylmolekeln geben dürfte, die beiden Reaktionstypen ihre Existenz verdanken, Moleküle nämlich, die thermisch oder durch anwesende Verunreinigung aktiviert in den Radikalzustand übergehen und dann bei Anwesenheit von P.O. dem oben skizzierten Übertragungsmechanismus anheimfallen. An dem einen Molekülende dieser Polyvinylverbindungen befindet sich nach dieser Vorstellung eine Gruppe unbekannter Struktur, die durch Nebenreaktionen entstanden ist, und an dem anderen Molekülende die Estergruppierung der dem P.O. zugrunde liegenden Säure.

Die Unterscheidung zwischen Peroxybeschleunigung und Wärmepolymerisation muß in all den Fällen scharf auseinander gehalten werden, wo man quantitative Schlüsse irgend welcher Art aus dem kine-

²⁶⁾ Die makromolekulare Chemie, 1, 106 (1947).

tischen Reaktionsablauf oder der analytischen Bearbeitung der Polymeren ziehen will, deren Bildung durch P. O. beschleunigt worden ist. Nach unseren Erfahrungen dürfte es praktisch unmöglich sein, die Wärmepolymerisation so weit auszuschließen, daß bei der üblichen Polymerisationstechnik, die teilweise Reaktionszeiten von mehreren Tagen in Anspruch nimmt, die wichtigen Größen wie Molgewicht und Umsatzgeschwindigkeit nicht wesentlich verändert werden können.

Diese Bedenken grundsätzlicher Art bekommen durch einen Vergleich von theoretisch ermittelten Werten mit den entsprechenden experimentell gefundenen Daten ein besonderes Gewicht. Schon im Abschnitt 10 haben wir darauf hingewiesen, daß die Mindestzahl 2 für die Endgruppen deshalb in vielen Fällen unterschritten wird, weil 1. mit großer Wahrscheinlichkeit durch Wärmepolymerisation G zu groß ist, 2. durch die thermische Polymerisation zusätzlich neue in qualitativer wie quantitativer Hinsicht unbekannte Endgruppen hinzukommen, und 3. aus später zu erörternden kinetischen Gründen das kryoskopische Molgewicht zu klein ausfällt. Alle drei Punkte verstärken sich im Sinne einer Verkleinerung von N .

Diese drei störenden Ursachen können durch eine einfache theoretische Überlegung auch quantitativ erfaßt werden.

Das mittlere Molgewicht läßt sich nach Abschnitt 10 nach folgender Formel berechnen:

$$\bar{M} = \frac{G \cdot N}{2 [\text{PO}]} = \frac{G}{[\text{PQ}]} \quad (\text{A}) \quad N \approx 2$$

Nach G. V. Schulz besteht zwischen Molgewicht und P.O. eine zweite durchsichtige Beziehung:

$$\bar{M} = \frac{k}{\sqrt{\text{PO}}} \quad (\text{B})$$

Aus diesen beiden Gleichungen folgt durch Einsetzung von $N = 2$:

$$G = k \sqrt{\text{PO}} \quad (\text{C})$$

Es ist offensichtlich, daß man, die Gültigkeit dieser beiden Gleichungen vorausgesetzt, dann die theoretischen Gewichte G errechnen kann, wenn man die Konstante k kennt. Dieser Wert läßt sich aus den Gleichungen B und C leicht errechnen, allerdings nur unter der Voraussetzung, daß M bzw. G durch andere Vorgänge nicht empfindlich gestört sind. Diese Voraussetzung ist bei den beiden Ansätzen mit den höchsten Peroxydkonzentrationen ausreichend erfüllt. Bei den übrigen Versuchen machen sich Nebenreaktionen störend bemerkbar, wie aus dem Gang der Konstanten zu entnehmen ist (siehe Tab. 14). Allen weiteren Berechnungen wird $k = 143$ zugrunde gelegt. Dieser Wert entspricht der bei sämtlichen Versuchen angewandten Menge von 20 g Styrol. Für 1 Mol Styrol wird $K = 326$.

Tab. 14

	P. O.	$k = M \sqrt{PO}$	$k = \frac{G}{\sqrt{PO}}$	$k = \sqrt{M \cdot G}$
1	19	145	147	146
5	19	145	136	140
2	12,4	148	155	151
6	12,4	141	149	145
3	4,14	134	170	150
7	4,14	148	168	157
4	2	125	185	152

Eine recht einfache Beziehung D ergibt sich aus den Gleichungen B und C, wenn man P.O. eliminiert:

$$\sqrt{M \cdot G} = k \quad (D)$$

Es wird damit ein experimenteller Beweis für die qualitativ schon lange bekannte Tatsache erbracht, daß bei festgelegter P.O.-Konzentration, Styrolkonzentration und gegebener Temperatur das Molgewicht und die Gesamtmenge an Polymerem einander umgekehrt proportional sind. Es eröffnet sich somit ein einfacher Weg, durch Messung der Größe G Molgewichtsbestimmungen durchzuführen und mit den nach anderen Methoden erhaltenen Molgewichten zu vergleichen. Es muß allerdings mit Nachdruck darauf hingewiesen werden, daß G einzig und allein nur solche Moleküle enthalten darf, die unter der unmittelbaren oder mittelbaren Einwirkung des P.O. entstanden sind. Die Reaktionsbedingungen müssen im Idealfall also so gewählt werden, daß praktisch nur die beschleunigte Polymerisation abläuft, wobei als weitere Voraussetzung die Kenntnis der Menge an umgesetztem P.O. erforderlich ist.

Nach Kenntnis der Konstanten k lassen sich aus Gleichung C die von der Theorie geforderten Endgewichte G_{Th} berechnen und unmittelbar mit den experimentell gefundenen vergleichen. Wie aus der Tab. 15 hervorgeht, vergrößert sich bei den 60 Minuten-Werten die Differenz zwischen den theoretischen und gefundenen Endgewichten immer mehr und erreicht beim Versuch: P.O. = 2 Millimol schließlich 30% des theoretisch berechneten Wertes.

Tab. 15

	PO	$G_{Th} = k \cdot \sqrt{PO}$	$G_{60'}$	$G_{15'}$	$G_{10'}$	$G_{5'}$	$G = M_{60'} \cdot PO$	$G = M_{15'} \cdot PO$	$G = M_{10'} \cdot PO$	$G = M_{5'} \cdot PO$	
1	19	19,7	20,24				19,9				B.P.O. A.P.O.
2	12,4	15,9	17,2				16,5				
3	4,14	9,2	10,92	9,2		7,91	8,6	8,3		7,0	
4	2	6,4	8,28	6,68	6,02		5,6	5,0	4,2		
5	19	19,7	18,75				19,7				
6	12,4	15,9	16,6				15,8				
7	4,14	9,2	10,8	9,68	8,15		9,5	8,5	7,3		
			gefunden				berechnet				

Um die Wärmepolymerisation nach Möglichkeit auszuschalten, wurde, wie bereits erörtert, die Polymerisationsdauer auf 15, 10 und 5 Minuten beschränkt. Es ist aus Tab. 15 ersichtlich, daß sich die 15 Minuten-Werte in guter Übereinstimmung mit den theoretischen Werten befinden (vgl. auch Tab. 16).

In Tab. 16 sind die nach der chemischen Endgruppenmethode nach Gleichung A berechneten Molgewichte mit den gefundenen und nach Gleichung B berechneten verglichen. Es zeigt sich, daß die Übereinstimmung bei den höchsten P.O.-Konzentrationen gut ist und mit sinkender Konzentration aus den diskutierten Gründen schlechter wird. Auffällig ist, daß die gefundenen Molgewichte unter den nach Gleichung B berechneten Molgewichten liegen, obwohl die mittlere Molgröße des Polymeren im Blindversuch (siehe oben) bei ungefähr 4400 liegt.

Tab. 16

	PO	$\frac{k}{\overline{M}_{Th}} = \frac{1}{\sqrt{PO}}$	$M_{60'}$	$M_{15'}$	$M_{10'}$	M_5	$\frac{G_{60'}}{M} = \frac{PO}{PO}$	$\frac{G_{15'}}{M} = \frac{PO}{PO}$	$\frac{G_{10'}}{M} = \frac{PO}{PO}$	$\frac{G_5'}{M} = \frac{PO}{PO}$	
1	19	1040	1050				1070				B.P.O. A.P.O.
2	12,4	1290	1330				1390				
3	4,14	2220	2080	2000		1700	2640	2220		1900	
4	2	3200	2800	2500	2120		4100	3340	3000		
5	19	1040	1050				990				
6	12,4	1290	1270				1340				
7	4,14	2220	2300	2050	1760		2600	2320	1970		
gefunden						berechnet					

Dieser Befund findet seine Erklärung, wenn man sich der Tatsache bewußt bleibt, daß die kinetische Kette nicht mit dem Polymerisationsgrad identisch ist; denn jede zusätzlich von einer Nebenreaktion erzeugte Kette greift entscheidend in das kinetische Geschehen ein, da jetzt nicht nur die der Polymerisation vorgelegte Zerfallsreaktion des P.O. die Zahl der Ketten bestimmt. So kommt es, daß jeder illegale Kettenstart zu einem schnelleren Verbrauch des P.O. führt, was notwendigerweise mit der Bildung kürzerer Ketten einhergeht. Es ist einleuchtend, daß damit auch das Tempo der P.O.-Zersetzung wieder indirekt beeinflusst wird. Ist jedoch das P.O. verbraucht, so können durch die Nebenreaktion Moleküle erzeugt werden, deren Molgröße weit über dem theoretischen Wert liegt. Somit können die experimentellen Werte schließlich die theoretischen Werte wieder übersteigen.

Als letztes soll der Einwand entkräftet werden, daß unser Mechanismus nur für Temperaturen gelten würde, die oberhalb der Zersetzungstemperatur des P.O. liegen. Wir haben uns überzeugt, daß Benzoylperoxyd, in Toluol gelöst, bei 50° prinzipiell gleichartig wie in unserem Schema formuliert unter Entbindung von Kohlensäure und Bildung von Benzoesäure zerfällt. Aus einigen bei 90° — also unterhalb der Zersetzungstemperatur der P.O. durchgeführten Polymerisationen — geht hervor, daß, wie zu erwarten war, die Umsetzung nur nach der quantitativen Seite hin verändert wird.

Dem Leiter des Instituts für Kolloidforschung, Herrn Dr. R. Jäger, danken wir ergebenst für die freundschaftliche Aufnahme in seinem Institut, Frl. Gisela Scheich für ihre zuverlässige Mitarbeit. Herrn Dr. Hopff, Ludwigshafen, sind wir für die Durchführung der direkten Sauerstoffanalysen zu Dank verpflichtet.

Beschreibung der Versuche

1. Ausführung der Polymerisation

20 g i. V. destilliertes Styrol werden in einem 250 ccm Schliffkolben mit 80 g Toluol versetzt und die in den Tabellen angegebenen Mengen Diacylperoxyd gepulvert hinzugefügt. Hierauf wird der Kolben mit Rückflußkühler versehen und in ein auf 120° erhitztes Ölbad gebracht. Das entstehende Kohlendioxyd wird durch Einleiten eines schwachen Wasserstoffstromes in zwei hintereinander geschaltete Vorlagen mit Barytwasser gespült; eine dritte Vorlage dient als Kontrolle. Nach 60 Min. läßt man im Wasserstoffstrom erkalten. Nach dieser Zeit ist in der Reaktionslösung kein Peroxyd mehr nachzuweisen.

2. Bestimmung der freien Acetylsalicylsäure²⁷⁾

Die Reaktionslösung wird mit 30 ccm 2n-Sodalösung ausgeschüttelt und mit Wasser nachgewaschen. Die Acetylsalicylsäure befindet sich jetzt quantitativ in der wässrigen Lösung, die auf 200 ccm aufgefüllt wird. Zur Entacetylierung werden hiervon 10 ccm mit 0,5 g NaOH zum Sieden erhitzt und in einem Erlenmeyer mit Glasstopfen auf etwa 100 ccm verdünnt. Man fügt dann 25 ccm einer n/10 Kaliumbromid-Kaliumbromat-Lösung und 5 ccm konz. Schwefelsäure hinzu, schüttelt kräftig um und läßt 15 Minuten stehen. Dann gibt man 10 ccm einer 12,5proz. Jodkaliumlösung hinzu, schüttelt um und titriert das freigewordene Jod mit n/10 Natriumthiosulfat.

3. Isolierung des Polymeren

Die mit Sodalösung ausgeschüttelte und mit Wasser neutral gewaschene Toluollösung wird erschöpfend mit Wasserdampf behandelt. Im übergegangenem Toluol läßt sich noch monomeres Styrol nachweisen. Um die letzten Reste Styrol aus dem Polymeren zu entfernen, wird dieses zweimal in 50 ccm Benzol gelöst und darauf mit Wasserdampf abgetrieben. Es werden jeweils etwa 600 ccm Wasser aufgefangen. Im zweiten Wasserdampfdestillat ist mit Brom kein Monomeres mehr nachweisbar.

Das Polymere wird gepulvert und im Vakuum-Exsikkator über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

4. Bestimmung des freien Phenylacetats

Wie in Kontrollversuchen nachgewiesen wurde, geht bei der Wasserdampfdestillation Phenylacetat mit Toluol auch in Gegenwart von Polymerem quantitativ über. Es wird durch Erhitzen mit 1 g KOH, das in 10 ccm Methanol gelöst war, durch 3stündiges Kochen unter Rückfluß in Phenol übergeführt. Die Toluollösung wird mit Wasser ausgeschüttelt, auf 100 ccm aufgefüllt und in 50 ccm das Phenol nach Koppeschaar bestimmt.

Versuch 1:

Beispiel: Vorgelegt:	25,00 ccm n/10 Bromid-Bromat
Zurücktitriert:	10,85 ccm n/10 Thiosulfat
Verbraucht:	14,15 ccm n/10 Bromid-Bromat
Gefunden:	0.00047 Mole Phenylacetat.

²⁷⁾ W. Koppeschaar, Ztschr. f. Analyt. Chem. 15, 243 (1876).

5. Die Verseifung des Polystyrols und die Bestimmung der gebundenen Acetylsalicylsäure und des gebundenen Phenylacetats

Zur Lösung von 2 g Polymerisat in 6 ccm Benzol fügt man 2 g Ätzkali in 10 ccm Methanol. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels auf einer Heizplatte erhitzt man unter stetigem Umrühren mit dem Thermometer noch etwa 5 Min. weiter, indem man die Temperatur allmählich bis 200° ansteigen läßt. Nach dem Erkalten zieht man mit Wasser aus, filtriert das Polymere ab und füllt auf 200 ccm auf.

a) In einem aliquoten Teil dieser Lösung wird die gebundene Acetylsalicylsäure maßanalytisch bestimmt:

Versuch 1:

Beispiel: Von den 200 ccm wurden 10 ccm pipettiert.

Vorgelegt: 25,00 ccm n/10 Bromid-Bromat

Zurücktitriert: 16,58 ccm n/10 Thiosulfat

Verbraucht: 8,42 ccm n/10 Bromid-Bromat

Gefunden:

für 2 g Poly-

merisat: 0,00281 Mole Acetylsalicylsäure,

für 20,24 g Po-

lymerisat: 0,0284 Mole Acetylsalicylsäure.

b) Ein aliquoter Teil der alkalischen Lösung wird mit Schwefelsäure angesäuert und die Essigsäure unter Einhaltung der für die Acetylgruppenbestimmung gegebenen Vorschrift abdestilliert. Dabei geht ein Teil der Salicylsäure mit über, die gesondert bestimmt werden muß. Durch Titration mit n/10 NaOH wird die Summe an Essigsäure und Salicylsäure ermittelt. In den austitrierten Lösungen wird die mit übergegangene Salicylsäure nach Koppeschaar bestimmt. Aus der Differenz läßt sich die Essigsäure ermitteln, die ihrerseits wieder ein Summenausdruck für den Esteranteil und für die über eine — C — C-Gruppe verknüpfte Endgruppe ist.

Durch Subtraktion der gefundenen Acetylsalicylsäure (siehe unter a) von der gesamten Essigsäure läßt sich das direkt gebundene Phenylacetat bestimmen.

Von den 200 ccm wurden 50 ccm zur Essigsäurebestimmung benutzt.

	Destillate				Summe
	1	2	3	4	
Gesamtsäuremenge in ccm n/10 NaOH .	8,77	2,73	0,85	0,35	12,70
Davon:					
Salicylsäure	2,31	1,53	0,73	0,30	4,87
Essigsäure	6,46	1,20	0,12	0,05	7,83

d. h., die verseiften 2 g Polymerisat enthalten:

an Acetylgruppen 0,00313 Mole

an Acetylsalicylsäure 0,00281 Mole

an gebundenem Phenylacetat 0,00032 Mole.

Danach enthalten 20,24 g Polymerisat 0,0032 Mole gebundenes Phenylacetat.

6. Nachweis der ungesättigten Natur des Polystyrols

a) Anlagerung von Brom. 8 g Polystyrol des Versuches 5 wurden in 35 ccm Tetrachlorkohlenstoff gelöst, mit 50,0 ccm einer ungefähr n/5 Bromlösung in CCl₄ versetzt und auf 100 ccm aufgefüllt.

Nach einstündigem Stehen im Dunkeln wurden je 10 ccm der Lösung mit 5 ccm 2n Schwefelsäure und Kaliumjodidlösung versetzt und mit n/10 Thiosulfat titriert.

Um das durch Substitution verbrauchte Brom zu bestimmen, wurden nach der Entfernung von überschüssigem Brom mit Styrol aliquote Teile mit Wasser ausgeschüttelt und der Bromwasserstoff mit n/10 Natronlauge titriert.

Gesamt-Bromverbrauch	3,88 ccm n/10 Thiosulfat
Substituiertes Brom	0,45 „ „ „
Addiertes Brom	3,43 „ „ „
gefundene Doppelbindung	
für 8 g Polymerisat	0,0017 Mole
für 18,75 g Polymerisat	0,004 Mole

In Blindversuchen wurde der Bromverbrauch des Lösungsmittels bestimmt und bei der Ausrechnung berücksichtigt.

b) Oxydation mit Kaliumpermanganat. 6 g Polystyrol des Versuchs Nr. 5 wurden in 50 ccm Aceton gelöst und mit 3 g fein gepulvertem Kaliumpermanganat versetzt. Nach eintägigem Stehen wird der Niederschlag abgesaugt, mit Aceton gewaschen und getrocknet. Er wird mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt, das Kohlendioxyd mit einem schwachen Wasserstoffstrom in Barytwasser getrieben und als Bariumsulfat bestimmt.

Der Rückstand, der die Benzoesäure enthält, wird mit Soda alkalisch gemacht und filtriert. Das Filtrat wird sauer ausgeäthert und die Benzoesäure nach dem Abdampfen des Äthers mit n/10 NaOH titriert.

Einen Teil der Benzoesäure (im Durchschnitt der Versuche etwa 10%) findet man im acetonischen Filtrat des Braunsteins. Man bestimmt diesen Anteil, indem man das Aceton abdampft und den acetonfeuchten und deshalb plastischen Rückstand in einer Reibschale mit 2n Lauge verreibt. Nach dem Filtrieren und Ausäthern wird die Benzoesäure wie oben bestimmt.

In einem Parallelversuch (50 ccm Aceton + 1 g Kaliumpermanganat) wird der Blindwert an Kohlendioxyd ermittelt.

Einwaage 6 g Polystyrol, Verbrauch 7,32 ccm n/10 NaOH (= 0,00073 Mole Benzoesäure) und 0,7090 g Bariumsulfat. Der Bariumsulfatwert der Blindprobe betrug 0,2517 g. Die Differenz dieser Werte (0,4573 g) ergibt die Menge Kohlendioxyd, die durch Oxydation der Benzoesäure entstand (= 0,00196 Mole). Unter der Annahme, daß 1 Mol Benzoesäure zu 7 Molen Kohlendioxyd oxydiert wird, entspricht die Kohlensäure 0,00028 Molen Benzoesäure. Für 18,75 g Polystyrol berechnet sich dann ein Gesamtwert an Benzoesäure von 0,00317 Molen.

Die Molekulargewichtsbestimmungen wurden nach der kryoskopischen Methode in Benzol ausgeführt,

z. B.: 1,00 g Substanz in 21,97 g Benzol: $dT = 0,220^\circ$, $M = 1050$.

(Abgeschlossen am 12. Januar 1948)

Am 13. August 1947 verschied in Höxter i. W.

Dr., Dr. h. c., Dr. e. h.

Carl Krekeler

Wir betrauern in dem Verstorbenen den Miterbauer unseres Werkes, den jederzeit hilfsbereiten und tatkräftigen Förderer von Wissenschaft und Technik. Viele Werke der Industrie gedenken seiner als einer der führenden Persönlichkeiten auf dem Gebiete der Chemie.

Wir werden seine Verdienste um unser Werk nicht vergessen und seiner stets gedenken.

Leverkusen, August 1947

FARBENFABRIKEN BAYER

I. G. Farbenindustrie A. G. in Auflösung

In Dissolution under British Control

Werk Leverkusen

HAEMOFERTAN

Organisches Aufbaumittel auf
Häemoglobinbasis

Philopharm

CHEM. PHARM. FABRIK QUEDLINBURG

Erfolgreiche
ASTHMA-THERAPIE
durch

ZANEDO-*Asthmapulver*
ZANEDO-*Asthmapulver*
ZANEDO-*Inhalationsmittel*
ZANEDO-*Inhalationsmittel*
ZANEDO-*Asthmatabletten*
ZANEDO-*Asthmatropfen*
ZANEDRYN
injizierbares Asthma-Präparat

FISCHER HILLER

Graef
RICHTIG GRAEF

ARZNEIMITTELFABRIKEN

BERLIN-SCHÖNEBERG

MÜNCHEN 13

LOSNITZ/SACHSEN



Neuer pH-Tüpfelapparat

nach Prof. Dr. Tödt / Dr. Gollnow

Meßbereich 1—14 pH
Universalindikator 2—10 pH
mit 3 neuen Farbtafeln



Neue pH-Farbtafel

zur Prüfung der Bodenreaktion
und des Kalkbedarfs

Dr. G. Gollnow, Bln.-Charlotten-
burg 5, Hebbelstr. 20, sowie Bad
Segeberg/Holst. (24b), Kirchstr. 22

Emulgiermaschine

„ZENITH“

D. R. P. u. Auslandspat.

3 Typen von ca. 30 bis
600 Lit. Stundenleistung
zur Herstellung von Sei-
fen, Salben, Linimenten,
Aromen und Weich-
krem sowie Lebertran-
u. Lack-Emulsionen usw.

Einfache Handhabung
Hohe Qualität

Wilhelm Steinhorst

Leipzig N 22

Ehrensteinstr. 49

CHEMIKALIEN

für Pharmazie und Technik

REAGENZIEN

in höchster Reinheit

FIXANAL-SUBSTANZEN

für die Maßanalyse

RIEDEL-DE HAËN A.-G. • SEELZE bei HANNOVER

Reagenzien
Feinchemikalien
wissenschaftliche
Präparate

für das Laboratorium
wenn auch in beschränktem Umfange
liefert wieder:

JULIUS MORSTADT K.G.
VILLINGEN-C 1 • SCHWARZWALD

Wir suchen zu kaufen

Beilstein
Handbuch
der org. Chemie

IV. Auflage

C. H. Boehringer Sohn
Wissenschaftliche Abt.
Ingelheim am Rhein

In Kürze erscheint

OTTO HAHN

Künstliche neue Elemente

Vom Unwägbaren zum Wägbaren
(mit einer Einführung in die Geschichte der Kernspaltung)

Zu beziehen durch alle Buchhandlungen oder notfalls,
möglichst unter Einsendung von Packmaterial, vom

50 Seiten

Preis RM. 2.50

VERLAG CHEMIE GMBH.

Weinheim/Bergstr. u. Berlin-Friedenau, Kaiserallee 89

Das Erscheinen mehrerer neuer Zeitschriften und der Wiederaufbau unseres Buchverlages sowie unseres Antiquariats bedingen eine Erweiterung unseres Betriebes. Wir benötigen dazu in Weinheim und Berlin dringend

Büromöbel aller Art

Diejenigen Leser, die in der Lage sind, uns zu helfen, bitten wir um entsprechende Angebote.

VERLAG CHEMIE, G.m.b.H.

(17a) Weinheim/Bergstr.
Hauptstraße 127

VERLAG CHEMIE, G.m.b.H.

(1) Berlin-Friedenau
Kaiserallee 89



Chemische Fabrik gegr. 1896 **Dr. Reininghaus**

Chemikalien und Präparate für
Untersuchungslaboratorien und
wissenschaftliche Zwecke

A p o l d a, Postfach 46. — Telefon 1147.

Säureschutzbau

seit 35 Jahren!

Wir bauen

Behälterauskleidungen jeder Art

Spezialität:

Säurefeste Fußböden, Wandbeläge
in bewährter Qualität und Ausführung

Liefern

Normalsteine, Normalplatten,
Formplatten, Spezial-Säurekitte,
Sekurit-Säurelack, Sekuritkitte

Kostenlose Beratung

Auf Wunsch Ingenieurbesuch

Friedrich Rößler

Fabrik säurefester Produkte
Bensheim/Bergstraße

Gebrüder Klees

Fabrik für Laboratoriums-
Einrichtungen

Düsseldorf

Sondergebiete:

1. elektrische Öfen,
Trockenschränke,
Potentiometer
2. glastechnische
Apparate
3. Laboratoriums-
Möbel in Holz- u.
Eisenkonstruktion

Säureschutzbau

HOTTELET & CO. K.G.

BERLIN-ZEHLENDORF · MÖLLERPFAD 5 · FERNRUF 760429



HEINZ GEUE
LEIPZIG - C1 - LESSINGSTRASSE 10
Laboratoriums-Bedarf

R E A G E N Z I E N

FEINCHEMIKALIEN

für Industrie und Forschung
Wissenschaftliche Präparate

in anerkannter Reinheit liefert, wenn auch
zur Zeit noch in beschränktem Umfang

Dr. Theodor Schuchardt G.m.b.H.

C h e m i s c h e F a b r i k
Zweigniederlassung Eisenach

Telefon: 1515

Telegramm-Adresse:
Schuchardt Eisenach

(15) EISENACH (THÜRINGEN)
(RUSSISCHE ZONE) Gaswerkstraße 30

ROHRLEITUNGEN

H Ä H N E , A P P A R A T E
GEFÄSSE BIS 300 LITER INHALT
aus säurebeständigem Steinzeug

F R A N Z G E R H A R D T
S T E I N Z E U G F A B R I K
SCHÖNEBECK/Elbe, Friedrichstr. 54—57

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN
DER CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON
HEINRICH WIELAND
ADOLF WINDAUS · RICHARD KUHN

BAND 559 · HEFT 2

VERLAG CHEMIE GMBH · WEINHEIM/BERGSTR. · BERLIN

Inhalt

Hans Fischer† und Fritz Gerner, Teilsynthese von Meso-methylphosphorbid a und von 9-Oxy-desoxo-meso-methylphosphorbid a. Über Chlor-meso-chlorino	77
Oskar Süß, Über die Anlagerung von Schwefelverbindungen an die β , β -Dimethylacrylsäure. — Synthesen der β , β -Dimethyl- α -aminopropionsäure, dl-Penicillamin	92
Rolf Huisgen, Beiträge und Deutungsversuche zur Reaktionsweise aromatischer Bicyclen (Mit 2 Figuren im Text)	101

Mitarbeiter dieses Heftes: Prof. Dr. *Hans Fischer*, geb. 27. 7. 1881 Höchst a. M., gest. 31. 3. 1945; Dr. Ing. *Fritz Gerner*, geb. 22. 7. 1913 Marktredwitz (Ofr.); Dozent Dr. *Rolf Huisgen*, geb. 13. 6. 1905 Gerolstein; Dr. *Oskar Süß*, geb. 9. 4. 1903 Höhenschweiler Krs. Pirmasens.

Für die Herren Mitarbeiter zur Beachtung

Eine wissenschaftliche Zeitschrift kann bei gleichen Herstellungskosten ihren Lesern um so mehr bringen, je knapper die einzelnen Beiträge in der Abfassung gehalten sind. Kürze der Darstellung ist dem Verständnis förderlicher als ungehemmte Weitschweifigkeit. Auf lange historische Einleitungen, wiederholte Beschreibung schon geschilderter Operationen, auf die liebevolle Charakterisierung an sich nebensächlicher Substanzen aus parallelen Reihen sollte verzichtet werden. Hier ist gedrängte Zusammenfassung im Lapidarstil am Platze.

Die Redaktion behält sich vor, Manuskripte, die den angedeuteten Grundsätzen entgegenlaufen, dem Autor zur Kürzung zurückzusenden.

Abhandlungen, deren Inhalt, wenn auch nur teilweise, schon an anderer Stelle veröffentlicht worden ist oder veröffentlicht werden soll, werden nicht aufgenommen.

Es wird besonders gebeten, die Korrekturen rasch zu erledigen. Nur dann ist das schnelle Erscheinen der Abhandlungen gewährleistet. Verzögerte Korrekturen führen zur Zurückstellung des betr. Beitrags.

Zusammengesetzte Namen sollen der Übersichtlichkeit wegen schon im Manuskript unter Anwendung von Trennungsstrichen wiedergegeben werden, z. B. Methyl-naphthyl-keton, nicht „Methylnaphthylketon“.

Formeln, die wiederkehren, werden zweckmäßig mit römischen Ziffern numeriert, die einen einfachen Hinweis gestatten.

Die Wiedergabe der Analysen ist von Band 430 an in der Schreibweise festgelegt. Wenn für dieselbe Substanz mehrere Analysen gleicher Art gebracht werden, empfiehlt sich die Anordnung gemäß folgendem Beispiel: 0,1270, 0,1404, 0,1176 g Subst.: 0,2854, 0,3062, 0,2459 g Co_2 , 0,0903, 0,1244, 0,0990 g H_2O .

Zitate von Zeitschriften werden nach dem jetzt allgemein eingeführten Brauch abgekürzt.

Die Redaktion

Liebigs Annalen erscheinen in Bänden zu je drei Heften. Die Redaktion besorgt Prof. Heinrich Wieland, (13b) Starnberg Obb., Schießstättstraße 12.

60 Sonderabzüge werden den Verfassern umsonst geliefert; eine größere Zahl kann zur Zeit wegen Papiermangels nur in Ausnahmefällen geliefert werden.

Abonnementspreis je Band 15,— RM. zuzügl. Versandkosten.

Copyright 1947 by Verlag Chemie, GmbH., (Lizenz US-W.1113 Eduard Kreuzhage) Weinheim/Bergstr. und Berlin — Printed in Germany — Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten.



JUSTUS LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE

559. Band

Teilsynthese von Meso-methylphäophorbid a und von 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a

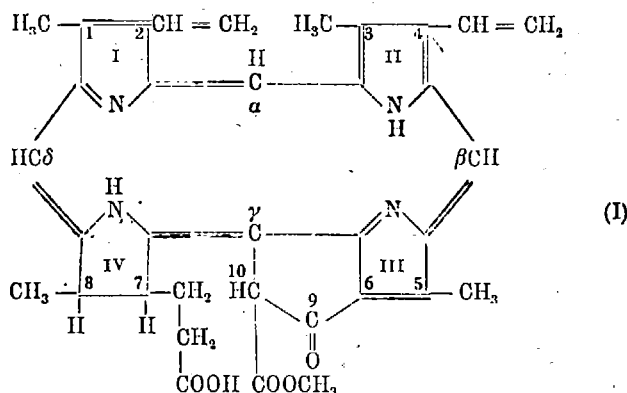
Über Chlor-meso-chlorine¹⁾

Von *Hans Fischer* † und *Fritz Gerner*

(Aus dem Organisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule München)

[Eingelaufen am 2. Okt. 1947.]

Nach den Untersuchungen von H. Fischer und Mitarbeitern kommt dem Grundkörper des Chlorophyll a, dem Phäophorbid a, folgende Konstitution zu:



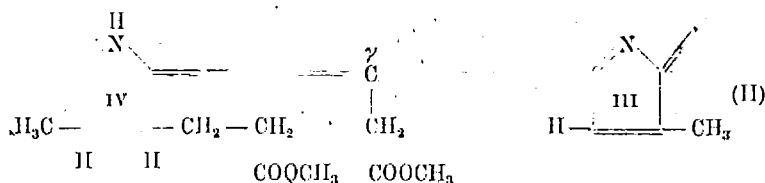
Ausgehend von dieser Verbindung ist es bereits früher^{2) 3)} gelungen, Chlorophyll a teilsynthetisch herzustellen. Andererseits wurde es wahrscheinlich gemacht, durch Totalsynthese zum Mesoisochlorin e₄⁴⁾ (II) zu gelangen:

¹⁾ 130. Mitteilung zur Kenntnis der Chlorophylle; 129. Mitteilung A. 558, 53 (1947).

²⁾ H. Fischer und G. Spielberger A. 510, 163 (1934).

³⁾ H. Fischer und W. Schmidt, A. 519, 250 (1935).

⁴⁾ H. Fischer und M. Strell, A. 556, 224 (1944).



Um nun synthetisch zum Meso-phäophorbida zu gelangen, sind grundsätzlich drei Wege möglich:

1. Einführung einer Carboxylgruppe.
2. Einbau einer CO-Gruppe zwischen γ - und 6-Stellung, wobei in beiden Fällen II als Ausgangsmaterial dient.
3. Hydrierung von Phäoporphyrin a_5 ⁵⁾, dem Porphyrinanalogen des Meso-phäophorbids a, das totalsynthetisch zugänglich ist⁶⁾.

Im ersten Falle würde Meso-chlorin e_6 resultieren; der Ringschluß ist schon früher gelungen⁷⁾. Trotz jahrelanger Bemühungen konnte aber die Einführung einer Carboxyl- oder einer anderen Gruppe in die 6-Stellung nicht oder wenigstens nicht in eindeutiger Weise erzielt werden⁸⁾⁹⁾. Auch die Hydrierung des Phäoporphyrins a_5 verlief negativ.

Auf Grund dieser Mißerfolge wurde der zweite Weg angegangen und versucht, die CO-Gruppe in oben angegebener Weise einzuführen. Es war nicht vorauszusehen, daß dieser Weg ebenfalls eine Reihe von Komplikationen mit sich bringen würde. Wie sich im Verlauf der Untersuchungen herausstellte, trat nahezu bei sämtlichen Reaktionen, die mit einer Reihe von Säurechloriden durchgeführt wurden, unerwünschte Chlorierung des Gesamtmoleküls ein. Es steht dabei nicht fest, an welcher Stelle das Chloratom haftet. Spektroskopische Befunde lassen die Annahme zu, daß diese Sekundärreaktion nicht in 6-Stellung, sondern an einer der Methinbrücken stattfindet. Als weitere Erschwerung bei all diesen Reaktionen ist die überaus leichte Dehydrierbarkeit zum Porphinsystem in Betracht zu ziehen. Trotz alledem ist es nach vielen anfänglichen Mißerfolgen gelungen, die Reaktion, die bereits in der Porphyrinreihe zum Ziele¹⁰⁾ geführt hat, auch auf die Chlorinreihe mit Erfolg zu übertragen.

Phosgen, Acetylchlorid und Orthoameisensäureäthylester ergaben bei ihrer Einwirkung auf Meso-isochlorin e_4 unter Verwendung von Aluminiumchlorid als Kondensationsmittel Chlorierungsprodukte, die sowohl im Schmelzpunkt als auch im Spektrum übereinstimmen. Zur

⁵⁾ H. Wenderoth, A. 558, 53 (1947).

⁶⁾ H. Fischer, E. Stier und W. Kanngiesser, A. 543, 258 (1940).

⁷⁾ H. Fischer und W. Lautsch, A. 528, 268 (1937).

⁸⁾ H. Fischer und F. Baláz, A. 557, 170 (1947).

⁹⁾ H. Fischer und F. Gerner, A. 553, 159 (1942), A. 557, 144 u. 136 (1947).

¹⁰⁾ H. Fischer und H. Kellermann, A. 524, 28 (1936).

Verwendung gelangten die Eisenkomplexsalze von Meso-isochlorin e_4 -dimethylester (II). Die nach der Enteisenung anfallenden Produkte haben alle phorbidaähnliche Spektren und sind halogenhaltig.

Bei der Einwirkung von Benzoylchlorid und von Oxalylchlorid auf Meso-isochlorin e_4 -hämmin werden Kondensationsprodukte erhalten, die in jeder Beziehung untereinander identisch sind, jedoch von den oben beschriebenen in der Lage der Spektralbanden — nicht im Spektraltyp — und im Schmelzpunkt geringfügige Abweichungen zeigen. Im Mischschmelzpunkt treten aber keine entscheidenden Depressionen auf. Da auf Grund der Analysendaten auch hier nur ein Chloratom in das Molekül eingetreten ist, können sich die beiden Typen vielleicht nur dadurch unterscheiden, daß das Chloratom nicht an der gleichen Methinbrücke sitzt.

Alle diese Produkte kristallisieren in Nadeln, die große Neigung zur Bildung von Mischkristallen mit Meso-isochlorin e_4 besitzen. Sie verhalten sich vollkommen resistent gegenüber methylalkoholischem Kali, Hydroxylamin, Orthophenylendiamin und Benzoylchlorid. Zusammen mit der Tatsache, daß beim Kochen mit Eisessig-Hydrochinon Meso-isochlorin e_4 zurückgebildet wird, geht daraus eindeutig hervor, daß außer dem Chloratom keine weitere Gruppe in das Molekül eingetreten ist.

Das so erhaltene Monochlor-meso-isochlorin e_4 reagiert in Chloroform mit Brom zu einem Körper, der im Spektrum identisch ist mit 6,7 (oder 8)-Dibrom-meso-isochlorin e_4 ¹¹⁾. Spektral derselbe Effekt wird mit der unter den gleichen Bedingungen durchgeführten Bromierung des Kondensates, das aus Meso-isochlorin e_4 und Essigsäureanhydrid bei Gegenwart von Stannochlorid erhalten wurde¹²⁾, erzielt. In diesem Falle ist jedoch nur ein Bromatom eingetreten, während die stabile Gruppe in 6-Stellung erhalten bleibt, denn Erhitzen in Eisessig führt wieder rückwärts zum Kondensationsprodukt, das von Hydrochinon-Eisessig nicht verändert wird. Hierbei ist ferner auch der spektroskopische Unterschied zwischen Chlor-meso-isochlorin e_4 und 6-Brom-meso-isochlorin bemerkenswert. Während letzteres reinen Chlorintyp besitzt, ist das Spektrum des Chlorkörpers, wie gesagt, phorbidaähnlich. Dieser Widerspruch gibt Grund zu der Annahme, daß das Chloratom nicht in 6-Stellung sitzt. In Frage kommt also nur eine der Methinbrücken oder die 7- oder 8-Stellung.

In die gleiche Reihe gehören auch die Reaktionsprodukte, die durch Einwirkung von Äther und 20proz. Salzsäure unter Belichtung entstehen. Die Reaktion ähnelt der in A. 547, 248 (1941) beschriebenen Chlorierungsmethode. Die Rolle des Perhydrols übernehmen dabei die durch Sonnenbestrahlung gebildeten Peroxyde des Äthers. Denn

¹¹⁾ H. Fischer, H. Kellermann und F. Baláz, B. 75, 1778 (1942).

¹²⁾ H. Fischer und F. Gerner, A. 557, 138 (1947).

mit peroxydfreiem Äther tritt im Dunkeln keine Umsetzung ein, während peroxydhaltiger Äther auch unter dieser Bedingung Chlorierung bewirkt, wenn auch in geringerem Maße als bei Belichtung. Dieses so erhaltene Meso-chlor-meso-isochlorin e_4 ist spektroskopisch identisch mit dem aus Meso-isochlorin e_4 und Acetylchlorid bzw. mit Phosgen erhaltenen; im Spektrum, Schmelzpunkt und in der Kristallform herrscht Übereinstimmung. Diese Methode scheint allgemeine Gültigkeit für die Chlorophyllderivate zu besitzen. Jedenfalls wurde dies in spektroskopischen Versuchen am Meso-chlorin e_6 , am 9-Oxy-9-methyl-desoxo-meso-methylphäophorbid a und an dem weiter unten beschriebenen Kondensationsprodukt von Meso-isochlorin e_4 mit asymmetrischem Dichloräther und seinem Oxim festgestellt. Bei diesen, in 6-Stellung substituierten Körpern resultieren purpurinähnliche Spektren und rotbraune Ätherfarben. Nur Meso-chlorin e_6 macht hierin eine Ausnahme, während Meso-phäophorbid a bei intensiver Bestrahlung in praktisch quantitativer Ausbeute ein Chlorprodukt liefert, das prachtvoll kristallisierte und das durch seine violettrote Ätherfarbe und sein purpurinähnliches Spektrum aus der ganzen Reihe hervorsticht. Auffallend ist auch die extrem hohe Extraktionszahl 30. Beim trockenen Erhitzen tritt bei 198° Zersetzung ein, wobei sich das Spektrum nach Blau verschiebt, so, daß gegenüber Meso-methylphäophorbid a immer noch Rotverschiebung bestehen bleibt. Beim Erhitzen mit Hydroxylamin in Pyridin tritt spektrale Änderung ein, eine Reaktion, die noch weiter verfolgt werden soll. Demnach scheint der Eintritt des Chloratoms an verschiedenen Stellen möglich und nur vom 6-Substituenten abhängig zu sein.

Durch die Einwirkung von Säurechloriden auf Meso-isochlorin e_4 wurde also nur Chlorierung erzielt, ohne daß das Ziel der Synthese von Meso-phäophorbid a oder Meso-chlorin e_6 dadurch in greifbare Nähe gebracht worden wäre.

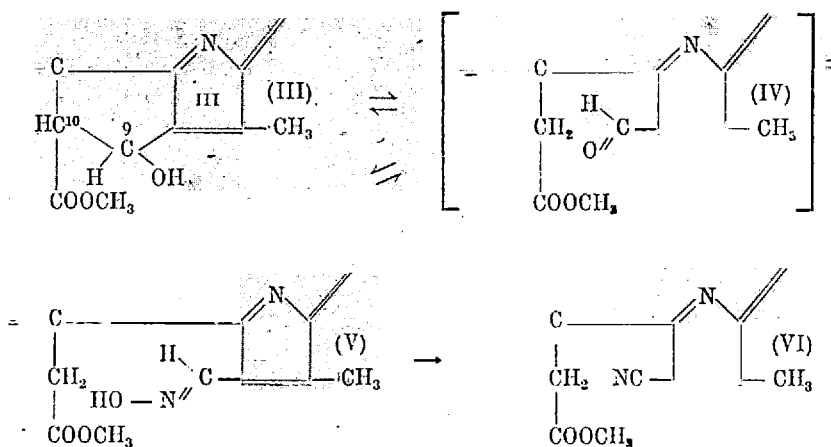
Nun ergab die Kondensation von Meso-isochlorin e_4 -häm in mit asymmetrischem Dichloräther unter dem Einfluß von Zimmetetrabromid eine Reihe von kristallisierten Produkten, über die im experimentellen Teil kurz berichtet wird, während an dieser Stelle nur von dem als Hauptprodukt anfallenden 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a (III) die Rede sein soll. Nach Chromatographie über Aluminiumoxyd des eisenfreien Reaktionsgemisches kristallisiert es sehr schön in Nadeln vom F. 198°. Die Ätherfarbe ist wie die des Meso-methylphäophorbids a (I, hydriert in 2-Stellung). Dagegen ist es spektral zwar vom gleichen Typ, aber nach Rot verschoben. Es unterscheidet sich damit vom analytischen 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a¹³⁾, das Chlorintyp besitzt und gegenüber dem Vergleichsspektrum nach Blau verschoben ist. Trotz dieses Unterschiedes zeigt das Kondensationsprodukt aber

¹³⁾ H. Fischer und H. Mittenzwei, A. 545, 166 (1940).

anschließend beschriebene Reaktionen, die eindeutig für die angegebene Konstitution sprechen.

Mit Benzoylchlorid tritt beim Erhitzen in Pyridin Umsetzung ein, eine Reaktion, die ganz allgemein zum Nachweis von Oxygruppen dient. Eine solche ist erkennbar an der spektralen Rotverschiebung und an der Erhöhung der Extraktionszahl. Auch die Chromatographie gibt einen Hinweis auf die angenommene Konstitution. Beim Eluieren mit Äther haftet der Stoff nämlich fest am Adsorbens und wandert am langsamsten von allen übrigen Umsetzungsprodukten durch die Säule hindurch, eine Erscheinung, die in der Chlorophyllechemie bei allen Oxykörpern beobachtet wird.

Nun zeigt aber 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a (III) eine große Reaktionsfreudigkeit gegenüber Hydroxylamin. Die Umsetzung, die fast schon bei Zimmertemperatur erfolgt und zu einer Verbindung mit Chlorinspektrum führt, scheint im Widerspruch zu stehen mit obiger Konstitutionsauffassung. Sie läßt sich aber damit durchaus in Einklang bringen. Zunächst einmal kann an der Tatsache, daß es sich um ein Oxim handelt, nicht gezweifelt werden. Bei der Chromatographie haftet die Substanz nämlich am Aluminiumoxyd derartig fest, daß sie mit neutralen organischen Lösungsmitteln nicht eluierbar ist und dem Adsorbens erst mit Eisessig entzogen werden kann. Dieses Verhalten ist dem der übrigen Oxime in der Gruppe des Chlorophylls analog. Ferner tritt beim Erhitzen des Oxims mit Essigsäureanhydrid-Natriumacetat Wasserentzug ein. Bei geringfügiger spektraler Änderung wird die Extraktionszahl stark erhöht. Es ist ein Nitril entstanden, das sehr schön kristallisierte und bei 205° schmolz.- Es handelt sich um das Meso-isochlorin c₄-6-nitril (VI). Die Analyse lieferte vor allem dafür



stimmende Werte, daß fünf Stickstoffatome im Molekül anwesend sind. Im Mischschmelzpunkt mit analytischem¹⁴⁾ Material trat keine Depression ein. Die Isomerisation mit farbloser Jodwasserstoffsäure führt bei 70° spektral zu dem bekannten Isochloroporphyrin c_4 -6-nitril¹⁵⁾. Bei der Oximierung des Kondensationsproduktes hat sich also das Meso-isochlorin c_4 -6-aldoxim (V) gebildet. Nun ist zu erwarten, daß bei der hydrolytischen Spaltung desselben rückwärts der entsprechende Aldehyd, 6-Formyl-meso-isochlorin c_4 (IV)¹⁶⁾ entstehen würde. Mit 20proz. Salzsäure wird aber unverändertes 9-Oxy-desoxo-meso-phäophorbid a zurückgebildet. Auf Grund dieses reversiblen Prozesses scheint die Annahme berechtigt zu sein, daß bei der Einwirkung von Hydroxylamin auf das Kondensationsprodukt III Oximierung bei gleichzeitiger Wanderung des Wasserstoffatoms von C_9 nach C_{10} erfolgt über 6-Formyl-meso-isochlorin c_4 , entsprechend dem unten angegebenen Schema. Die Verseifung des Oxims führt dann wiederum zu einer Wanderung des Wasserstoffatoms in umgekehrter Richtung. Es sei hier noch erwähnt, daß 20proz. Salzsäure/Äther derartig auf das Oxim einwirkt, daß Rückbildung und gleichzeitige Chlorierung von 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a stattfindet. Dieser Chlorkörper besitzt purpurinähnliche Ätherfarbe, auch in der Lage der Banden besteht Ähnlichkeit mit dem „6-Aldehyd“. Er läßt sich erneut oximieren. Das neue Spektrum ist aber phorbidähnlich und gegenüber dem Oxim des Kondensationsproduktes (V) nach Rot verschoben. Der spektralen Erscheinung nach hat sich das monochlorierte Oxim gebildet.

Der kurzdauernde Abbau des 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbids a mit farbloser Jodwasserstoffsäure bei 70° ergibt kein Porphyrin. Das ist wiederum eine Reaktion, die eher dagegen spricht, daß bei der Behandlung von Meso-isochlorin c_4 mit Dichloräther Substitution in 6-Stellung erfolgt ist. Denn als Faustregel gilt, daß der Isomerisations- bzw. Dehydrierungsreaktion nur in 6-Stellung substituierte Chlorophyllderivate unterliegen. Es zeigt sich aber, daß bei dem Ringcarbinol (III) nach 48stündiger Einwirkungsdauer bei Zimmertemperatur zu etwa 30 % ein Porphyrinspektrum auftritt, das mit dem des bekannten 9-Oxy-desoxo-phäoporphyrin a_5 ¹⁷⁾ — bei der Kondensation selbst fällt dies als Nebenprodukt an — identisch ist. Meso-isochlorin c_4 aber gibt auch unter diesen Bedingungen kein Porphyrin. Dagegen wird das bei der Kondensation von Meso-isochlorin c_4 mit Essigsäureanhydrid und Stannochlorid erhaltene Kondensationsprodukt, dem wir¹⁸⁾ die Konstitution eines 9-methylierten 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbids a zugeschrieben, ebenfalls bei Zimmertemperatur dehydriert, während

¹⁴⁾ H. Fischer, F. Baláz, F. Gerner und M. Königer, A. 557, 169 (1947).

¹⁵⁾ l. c. S. 170.

¹⁶⁾ H. Fischer und F. Gerner, A. 553, 155 (1942).

¹⁷⁾ H. Fischer und H. Kellermann, A. 524, 28 (1936).

¹⁸⁾ H. Fischer und F. Gerner, A. 557, 138 (1947).

bei 70° Porphyrinbildung ausbleibt. So erscheint das Mißlingen der Isomerisations- bzw. Dehydrierungsreaktion bei 70° (zwei Minuten) kein Beweis dafür zu sein, daß etwa keine Substitution in 6-Stellung erfolgt wäre. Es ist nur so, daß bis jetzt keine Erfahrungen mit solchen Chlorophyllderivaten vorliegen, die in 6-Stellung eine andere als eine Carboxyl- bzw. Carbonylgruppe tragen.

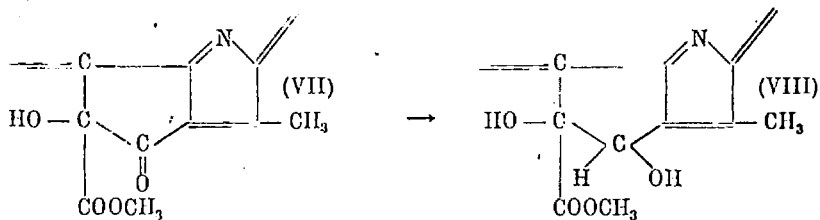
Das Für und Wider aller Versuchsergebnisse wäre mit einem Schlage geklärt, wenn 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a durch Oxydation in Meso-methylphäophorbid a (I hydriert in 2-Stellung) übergeführt werden könnte. Neben dem oben erwähnten und kristallisiert erhaltenen Meso-isochlorin c₄-6-nitril (VI) wäre es das erste synthetische Derivat aller bisherigen Versuchsreihen, das sich mit einwandfreiem, analytischem Material vergleichen ließe. Es war vorauszusehen, daß dieses Ziel schwierig zu erreichen sein würde und zwar deshalb, weil neben den gewöhnlichen Schwierigkeiten einer Oxydation auch noch der leichte Übergang vom Chlorophyll- in das Porphyrinsystem und das labile Wasserstoffatom in 10-Stellung zu berücksichtigen waren. Trotz größter Materialknappheit — die Arbeit befand sich erst in den letzten Kriegsmonaten in diesem Stadium — mußte eine lange, negative Versuchsreihe mit in Kauf genommen werden. Der erste Erfolg zeigte sich erst bei Verwendung von Kaliumpermanganat in einem Pyridin-Wasser-Gemisch. Es resultieren dabei zwei Substanzen, die durch Chromatographie über Aluminiumoxyd getrennt werden können. Zunächst wandert ein Produkt mit blaugrüner Ätherfarbe durch die Säule. Es kristallisiert in feinen Nadelchen. Diese beginnen bei 225° zu schmelzen, sind aber bei 245° noch nicht durchgeschmolzen. Kurzes Erwärmen mit farbloser Jodwasserstoffsäure auf 70° liefert ein gegenüber Phäoporphyrin a₃ nach Blau verschobenes Spektrum, das mit dem von 10-Oxy-phäoporphyrin a₃¹⁹⁾ identisch ist. Demnach handelt es sich um das 10-Oxy-meso-methylphäophorbid a (VII). Auch das analytische Material besitzt den angegebenen unscharfen Schmelzpunkt.

Der zweite mit mehr braunstichiger Ätherfarbe durch die Aluminiumoxydsäule hindurchgehende Körper kristallisiert in langen Nadeln vom Schmp. 128°. Im Spektrum besteht geringe Rotverschiebung gegenüber Meso-phäophorbid a. Die CH-Werte lassen auf ein Monoxy-meso-methylphäophorbid a schließen. Bei der kurzdauernden Einwirkung von farbloser Jodwasserstoffsäure bei 70° bleibt es unverändert. Aber bei Zimmertemperatur resultiert nach 48 Stunden ein Porphyrin. Wegen dieser Analogie mit dem Dichlorätherkondensationsprodukt (III) könnte man auf ein 9,10-Dioxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a (VIII) schließen. Die weitere Untersuchung mußte der Materialknappheit wegen zurückgestellt werden.

Wenn man nun 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a in Eisessig mit Chinon erhitzt, dann entsteht ein Körper, der im Spektrum

¹⁹⁾ M. Strell, A. 550, 61 (1940).

und in der Extraktionszahl mit Meso-methylphäophorbid a identisch ist. Wiederholte Chromatographie aus Äther über Aluminiumoxyd des dabei resultierenden Reaktionsgemisches ist unbedingt erforderlich. Die Identität wird durch den kurzdauernden Abbau mit farbloser Jodwasserstoffsäure bei 70° bewiesen. Es entsteht Phäoporphyrin a₃, das durch ein ganz charakteristisches Spektrum ausgezeichnet ist. Wenn auch diese Oxydation wegen der schon betonten Materialknappheit nur spektroskopisch durchgeführt werden konnte, kann doch an ihrem



tatsächlichen Gelingen kaum ein Zweifel bestehen, um so mehr, als der ebenfalls nur spektroskopisch durchgeführte alkalische Abbau des vermutlichen Meso-methylphäophorbids a zu Meso-chlorin e₆ führte.

Es ist somit die Synthese des Meso-methylphäophorbids a (I hydriert in 2-Stellung) durchgeführt und damit auch die des Mesochlorophyllids²⁰⁾, denn dieser Übergang wurde schon früher erzielt, ebenso die Einführung von Phytol²¹⁾. Zur Totalsynthese fehlt nur noch die Synthese des Meso-isochlorin e₄-dimethylesters, die bis zum Meso-pyrrochlorin-γ-glykolsäure-dimethylester bereits gelungen ist; auch dessen Reduktion zum Meso-isochlorin e₄ wurde nach dem spektroskopischen Befund erreicht²²⁾. Es ist also nur noch eine Materialfrage, die Totalsynthese zu vollenden.

Natürlich übertrugen wir auch die Reaktionen auf die Vinylverbindungen des Isochlorins e₄, den Isochlorin e₄-dimethylester bzw. sein Eisenkomplexsalz²³⁾. Hier verlief, wie wegen der Anwesenheit der Vinylgruppe zu erwarten war, die Reaktion noch komplizierter und es entstand ein Gemisch von zahlreichen Körpern, aus dem schließlich, in allerdings geringer Ausbeute, ein schön kristallisiertes Produkt vom Schmp. 222° isoliert wurde, das nach der Elementaranalyse die Zusammensetzung der Vinylverbindung (Vinylgruppe in 2-Stellung am Kern I) von 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a besitzt. Nach den spektroskopischen Erscheinungen handelt es sich jedoch nicht um den Ringkörper, sondern um den mit dem Kondensationsprodukt III iso-

²⁰⁾ H. Fischer und G. Spielberger, A. 510, 163 (1934).

²¹⁾ H. Fischer und W. Schmidt, A. 519, 250 (1935).

²²⁾ H. Fischer und M. Strell, A. 556, 224 (1944).

²³⁾ Diese Versuche hat Herr Schmelz durchgeführt.

meren 6-Formyl-isochlorin c_4 -dimethylester (IV, aber mit der 2-Vinylgruppe), denn es tritt auch hier leicht Oximbildung ein und das kristallisierte Oxim läßt sich in das bekannte Isochlorin c_4 -6-nitril überführen.

Wie schon erwähnt, entstehen noch zahlreiche Nebenprodukte und es lag deshalb nahe, als Ausgangsmaterial nicht die Vinylverbindung anzuwenden, sondern das bereits bekannte 2-Carbinol bzw. die entsprechende 2-Acetylverbindung. Bei beiden Körpern gelang die Kondensationsreaktion nach den spektroskopischen Erscheinungen. Nur wird es größerer Mengen von Material bedürfen, um auf diesem Wege die Totalsynthese des Chlorophylls zu vollenden.

Versuche

Monochlor-meso-isochlorin c_4 -dimethylester aus Meso-isochlorin c_4

1. durch Einwirkung von *Oxalylechlorid*. 500 mg Meso-isochlorin c_4 -dimethylester-häm in 30 ccm Oxalylechlorid gelöst und bei Zimmertemperatur mit 2 g Sublimat versetzt. Es wird kräftig umgeschüttelt. Nach 5 Minuten gießt man auf Eis und treibt in Äther. Mit 15proz. Salzsäure wird enteisendes, nicht umgesetztes Material entfernt. Die Substanz löst man in möglichst wenig Eisessig und enteisent mit Ferroacetat-Salzsäure. Man treibt wiederum in Äther, entfernt den Eisessig mit verdünnter Natronlauge und fraktioniert mit 15proz. Salzsäure in frischen Äther. Das Lösungsmittel wird eingengt und nach dem Abkühlen über Aluminiumoxyd chromatographiert. Die Substanz kristallisiert dann aus Äther in sehr schönen Nadeln vom Schmp. 147°. Extraktionszahl 14. Ausbeute 40%.

Zur Analyse wurde wiederholt aus der Hülse mit Äther extrahiert und bei 80° i. Hv. getrocknet.

$C_{35}H_{41}O_4N_4Cl$	Ber. C 68,09	H 6,54	N 9,08	OCH ₃ 10,06	O 10,37
(616,80)	Gef. „ 68,23	„ 6,67	„ 9,08	„ 10,15	„ 9,12.

Spektrum in Pyridin-Äther:

I. 674,7—634,1; 654,4	Ia. 623,3;	II. 618,4—594,0; 606,2	III. 552,0;	IV. 534,1—525,1; 529,6
V. 514,7—479,3; 497,0	EA. 440;	R.d.I. I, V, IV, II, III, Ia.		

20,1 mg pro 100 ccm Aceton:	Rotfilter	Gelbfilter
	$\Delta\alpha = -0,17^\circ$	$\Delta\alpha = -0,24^\circ$
	$[\alpha]_{20} = -850^\circ$	$[\alpha]_{20} = -270^\circ$

Das Spektrum ist durch zwei breite Blaubanden ausgezeichnet und phorbid-ähnlich. Mit Hydroxylamin in Pyridin und mit o-Phenylendiamin in Eisessig tritt keine Reaktion ein, ebenfalls bei der kurzdauernden Verseifung mit starkem methylalkoholischem Kali. Das veresterte als auch das verseifte Produkt gibt mit Permanganat in Pyridin keine Veränderung. Beim kurzen Erwärmen mit farbloser Jodwasserstoffsäure in Eisessig auf 70° tritt keine Überführung in das Porphyrinsystem ein. Dagegen bildet sich mit Brom in Chloroform ein dem 6,7 (oder 8)-Dibrom-meso-isochlorin c_4 spektroskopisch identisches Produkt. Erhitzen in Eisessig führt zu Meso-isochlorin c_4 .

2. durch Einwirkung von *Benzoylchlorid*. 200 mg Meso-isochlorin- c_4 -diester-hämin werden in 10 ccm Benzoylchlorid gelöst. Man gibt etwas Aluminiumchlorid hinzu, wobei Verfärbung bis zur Rotfärbung eintritt. Nach 10 Minuten wird in Äther gegeben. Durch Schütteln mit verd. Ammoniak wird das Säurechlorid in Benzamid übergeführt und aus dem Äther entfernt. Mit 10proz. Salzsäure entzieht man nicht umgesetztes Ausgangsmaterial. Die Enteisung wird mit Ferroacetat-Salzsäure in bekannter Weise durchgeführt. Es wird in Äther getrieben, mit verdünnter Natronlauge der Eisessig und mit 10proz. Salzsäure Meso-isochlorin c_4 entfernt. Mit 15proz. Salzsäure entzieht man das Reaktionsprodukt, das durch Verdünnen der salzsauren Auszüge mit Wasser in frischen Äther getrieben wird. Nach Chromatographie des in wenig Äther gelösten Produktes über Aluminiumoxyd erhält man prächtige Nadeln vom Schmp. 129°. Ausbeute 50%.

5.049 mg Substanz (bei 80° i. Hv. getr.): 12,826 mg CO₂, 3,191 mg H₂O; — 5,070 mg Subst.: 0,412 ccm N₂ (22° und 718 mm): — 3,359 mg Subst.: 0,666 ccm n/50 KSCN.

$C_{35}H_{41}O_4N_4Cl$ Ber. C 68,09 H 6,54 N 9,08 OCl₃ 10,37
(616,80)

Gef. C 69,28 H 7,07 N 8,88 OCl₃ 12,30.

Spektral besteht Übereinstimmung mit dem mit Oxalylechlorid erhaltenen Chlor-meso-isochlorin c_4 .

3. durch *Einwirkung* von *Acetylchlorid*. Zu einer Lösung von 100 mg Meso-isochlorin c_4 -diester-hämin in 10 ccm Acetylchlorid gibt man bei Zimmertemperatur wenig Aluminiumchlorid. Nach 10 Minuten wird auf Eis gegossen und wie unter 1. beschrieben aufgearbeitet.

Gef. C 68,81 H 6,95 N 9,31 OCH₃ 9,98.

15,0 mg pro 100 ccm Aceton: Rotfilter
 $\Delta\alpha = -0,14^\circ$
 $[\alpha]_{20} = -930^\circ$.

Spektrum in Pyridin-Äther:

I. 672,3—641,3: Ia. 623,3; II. 611,6—594,4; III. 553,5; IV. 533,7—524,1:
656,8 602,5 528,9

V. 514,4—483,4; E.A. 440; R.d.I. I, V, IV, II, III, Ia.
498,9

Mit Hydroxylamin keine Reaktion. Die Beilsteinprobe ist positiv. Beim einstündigen Kochen mit Eisessig bildet sich quantitativ Meso-isochlorin c_4 zurück.

4. durch *Einwirkung* von *Phosgen*. 100 mg Meso-isochlorin c_4 -diester-hämin werden in 15 ccm Phosgen gelöst und bei —15° mit Aluminiumchlorid versetzt. Man schüttelt kräftig durch und läßt nach 25 Minuten langsam auf eisgekühlte, gesättigte Kaliumbicarbonatlösung tropfen. Die ausgeflockte Substanz treibt man in Äther und entfernt nicht umgesetztes, enteistes Material. In der üblichen Weise weiter behandelt. Aus Äther Nadeln vom Schmp. 152°. Ausbeute 10%.

Gef. C 67,73 H 7,33 N 9,54 OCH₃ 9,79.

Das Spektrum ist identisch mit dem auf anderen Weg erhaltenen Monochlor-meso-isochlorin c_4 .

15,0 mg pro 100 ccm Aceton: Rotfilter
 $\Delta\alpha = -0,16^\circ$
 $[\alpha]_{20} = -925^\circ$.

5. durch *Einwirkung* von *o*-Ameisensäureäthylester. 500 mg Meso-isochlorin c_3 -diester-hämin werden in 50 cem *o*-Ameisensäureäthylester gelöst und mit Aluminiumchlorid versetzt. Man erwärmt auf 40°. Nach 30 Minuten gibt man in 3 l Äther, wäscht mit viel Wasser und entfernt enteistes Material durch Schütteln mit 15proz. Salzsäure. Weitere Verarbeitung wie beschrieben. Es wurde nur ein amorphes Produkt in einer Ausbeute von 15% erhalten. Schmp. 145°.

Gef. OCH_3 , 10,27 O 8,93.

Spektral besteht Identität mit dem aus Meso-isochlorin e und Acetylchlorid erhaltenen Chlorkörper. Die Beilsteinprobe ist positiv.

Ferner wird vom Aluminiumoxyd in etwa gleicher Menge ein Körper festgehalten, der mit dem anderen Produkt spektroskopisch übereinstimmt. Er ist in verdünntem Alkali und Ammoniak unlöslich und fiel in amorphem Zustand an.

6. durch *Einwirkung* von 20proz. Salzsäure-Äther. 200 mg Meso-isochlorin c_4 -dimethylester löst man in 150 cem 20proz. Salzsäure durch Umschütteln und gibt in einem Meßzylinder 150 cem Äther hinzu. Das Ganze setzt man darin der intensiven Sonnenbestrahlung aus, schüttelt in Abständen gut durch und treibt nach etwa 24 Stunden in 3 l Äther. Es wird neutral gewaschen und mit Diazomethan verestert. Mit 10proz. Salzsäure werden Spuren von nicht umgesetztem Ausgangsmaterial entfernt und das Reaktionsprodukt mit 15proz. Salzsäure in frischen Äther übergeführt, das beim Einengen desselben sofort in schönen Nadeln vom Schmp. 147° kristallisiert. Der Schmelzrückstand ist unverändert. Der Mischschmelzpunkt mit dem mit Acetylchlorid erhaltenen Körper ergibt keine Depression.

Gef. C 68,18; H 6,62; N 9,28.

Das Spektrum ist identisch mit dem aus Meso-isochlorin und Acetylchlorid resultierenden Chlorprodukt. Die Beilsteinprobe ist positiv.

Monochlor-meso-chlorin c_6 . 20 mg Meso-chlorin c_6 -triester werden unter den gleichen, im Vorausgegangenen beschriebenen Bedingungen mit 20proz. Salzsäure-Äther behandelt. Bei intensiver Sonnenbestrahlung resultiert in praktisch quantitativer Ausbeute ein Körper mit der Extraktionszahl 14 und folgendem Spektrum in Pyridin-Äther:

I. 681,8—647,6; 633,2	Ia. 629,4;	II. 615,3—600,0; 607,7	III. 556,9;	IV. 539,8—526,7; 533,3
V. 514,5—489,1; 501,8				
E.A. 435; R.d.I. I, V, IV, II, Ia, III.				

Monochlor-meso-methylphäophorbid a-methylester. 500 mg Meso-methylphäophorbid a (oder Meso-phäophorbid a) löst man durch Schütteln mit 500 cem 20proz. Salzsäure in einem 1 l Meßzylinder, gibt $\frac{1}{2}$ l Äther hinzu und setzt das Ganze der Bestrahlung aus. Die Reaktion ist in guter Ausbeute erfolgt, wenn die über der Salzsäure stehende Ätherschicht intensiv violettrot gefärbt ist. Man treibt dann in 5 l Äther, wäscht neutral und verestert mit Diazomethan. Mit 17proz. Salzsäure wird nicht umgesetztes Material entzogen, während in 30proz. Salzsäure das Reaktionsprodukt geht. Durch Verdünnen der salzsauren Fraktion mit Wasser wird es in frischen Äther getrieben. Nach dem Einengen kristallisiert es daraus in Nadeln, die aus Äther wiederholt um-

kristallisiert wurden und dann den Schmp. 201° besaßen. Die Ausbeute ist bei intensiver Sonnenbestrahlung nach etwa 24 Stunden nahezu quantitativ. Extraktionszahl 30.

4,507 mg Subst. (bei 100° i. Hv. getr.): 11,003 mg CO₂, 2,525 mg H₂O; — 3,655 mg Subst.: 0,303 ccm N₂ (23° und 720 mm).

C₃₆H₃₉O₅N₃Cl Ber. C 67,21 H 6,11 N 8,70
(642,79) Gef. „ 66,89 „ 6,27 „ 9,06.

Spektrum in Pyridin-Äther:

I. 681,0—649,9; II. 613,0—602,4; III. 561,5; IV. 546,8—536,4; V. 516,3—498,2;
665,5 607,7 (sehr schwach) 541,6 507,3
E.A. 439; R.d.I. I, IV, V, II, III.

Beim Erhitzen über den Schmelzpunkt tritt Zersetzung ein. Das Spektrum verschiebt sich dabei nach Blau, gegen Meso-methylphäophorbida ist es aber immer noch nach Rot verschoben. Kurzdauernde Einwirkung von farbloser Jodwasserstoffsäure in Eisessig bei 70° führt zu Phäoporphyrin a₅. Einständiges Erhitzen mit Hydroxylaminhydrochlorid in Pyridin auf dem siedenden Wasserbad bewirkt Reaktion. Ein Teil der Substanz wird bei der chromatographischen Analyse, obwohl alkalisch unlöslich, vom Aluminiumoxyd festgehalten, während der größere Teil durch die Säule hindurchgeht. Beide haben das gleiche Spektrum.

Monochlor-9-methyl-9-oxy-desoxo-meso-methylphäophorbida. 10 mg kurzweg als 6-Acetyl-meso-isochlorin e₄ bezeichnetes Kondensationsprodukt werden in 20proz. Salzsäure-Äther belichtet. Es resultiert ein Körper mit rotbrauner Ätherfarbe und folgendem Spektrum in Pyridin-Äther:

I. 681,6—649,1; II. 614,9—602,8; III. 557,5; IV. 537,3—527,5; V. 512,8—488,5;
665,4 608,9 (sehr schwach) 534,4 500,7
E.A. 437; R.d.I. I, V, IV, II, III.

Extraktionszahl 12. Ausbeute nahezu quantitativ.

7 (oder 8)-Brom-6-acetyl-meso-isochlorin e₄-dimethylester

100 mg 6-Acetyl-meso-isochlorin e₄-dimethylester werden in 60 ccm Chloroform gelöst und mit 5 ccm einer 10proz. Brom-Eisessiglösung versetzt²⁴). Nach 15 Minuten wird überschüssiges Brom mit Natriumthiosulfat entfernt, die Lösung mehrmals mit verdünnter Natronlauge und dann mit Wasser durchgeschüttelt, Chloroform durch Filtrieren getrocknet und abgedampft. Der Rückstand wird mit wenig Pyridin aufgenommen und in Äther getrieben. Der Farbstoff geht in 15proz. Salzsäure. Die salzsaure Fraktion wird durch Verdünnen mit Wasser in frischen Äther getrieben. Trotz wiederholter Chromatographie über Aluminiumoxyd konnte keine Kristallisation erzielt werden. Die Ausbeute an spektroskopisch reinem Material ist nahezu quantitativ.

4,180 mg Subst. (bei 100° i. Hv. getr.): 9,534 mg CO₂, 2,239 mg H₂O; — 4,497 mg Subst.: 0,606 ccm n/50 KSCN.

C₃₇H₄₃O₅N₄Br Ber. C 63,31 H 6,16 OCH₃ 8,82
(703,28) Gef. „ 62,21 „ 6,23 „ 8,36.

Spektral besteht Identität mit dem in A. 540, 229 (1930) beschriebenen 6,7 (oder 8)-Dibrom-meso-isochlorin e₄-dimethylester.

²⁴) Vgl. B. 75, 1788 (1942).

8,9 mg pro 100 ccm Aceton: Rotfilter
 $\Delta a = -0,03^\circ$
 $[\alpha]_{20} = -330^\circ$.

Beim Erhitzen mit Hydrochinon in Eisessig tritt Bromabspaltung zu dem 6-Brom-meso-isochlorin e_4 , mit dem spektrale Identität besteht, ein. Die Extraktionszahl ist aber nunmehr auf 8 gesunken, während der erwähnte Monobromkörper die Extraktionszahl 12 besitzen soll. Es ist also wieder das Ausgangsmaterial zurückgebildet worden, das mit dem 6-Brom-meso-isochlorin e_4 spektroskopisch identisch ist.

Daß bei der Bromierung des Kondensationsproduktes nur ein Bromatom eingetreten ist, geht auch aus den Drehwerten eindeutig hervor. Denn das eben beschriebene Monobrom-acetyl-meso-isochlorin e_4 besitzt den Drehwert -330° und das 6,7- (oder 8)-Dibrom-meso-isochlorin e_4 -1250° .

9-Oxy-desoxo-meso-phäophorbid a-dimethylester (III)

500 mg Meso-isochlorin e_4 -dimethylester-hämin werden in 30 ccm Dichloräther gelöst und mit 1—2 ccm geschmolzenem Zinntetrabromid versetzt. Man läßt 10 Minuten unter häufigem Umschütteln stehen, gießt auf Eis und nach der Zersetzung des asymmetrischen Dichloräthers sofort in 3 l Äther. Mit 15proz. Salzsäure wird nicht umgesetztes Ausgangsmaterial entfernt, der neutral gewaschene Äther eingedampft. Das Hämin wird mit Ferroacetat-Salzsäure enteist und in Äther getrieben. Mit verdünnter Natronlauge wird die Essigsäure herausgewaschen, mit dest. Wasser neutral gewaschen und mit Diazomethan nachverestert. Bei der Fraktionierung geht 9-Oxy-desoxo-phäoporphyrin a_5 in die 4proz. Salzsäure. Ausbeute etwa 5%. In der 10proz. Salzsäure ist dann kein Porphyrin mehr enthalten, sondern nur mehr grüne Körper. Diese Fraktion wird durch Verdünnen mit Wasser in frischen Äther getrieben. Nach dem Einengen des Lösungsmittels wird über Aluminiumoxyd chromatographiert. Zunächst geht unverändertes Meso-isochlorin e_4 durch die Säule, dann folgt ein in Farbe und Spektrum purpurinähnlicher Körper. Das Hauptprodukt, 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a wandert als letzte Substanz sehr langsam durch die Säule hindurch. Aus Äther kristallisiert es dann in feinen Nadelchen, die aus Äther wiederholt zur Analyse umkristallisiert wurden und zuletzt bei 198° konstant schmolzen. Ausbeute 15%.

4,608 mg Subst. (bei 100° i. Hv. getr.): 12,035 mg CO_2 , 2,993 mg H_2O ; — 4,211 mg Subst.: 0,351 ccm N_2 (20° und 718 mm); — 3,284 mg Subst.: 0,546 ccm $\text{n}/50$ KSCN.

$\text{C}_{38}\text{H}_{42}\text{O}_5\text{N}_4$ Ber. C 70,80 H 6,93 N 9,17 OCH_3 10,36
 (610,74) Gef. „ 71,23 „ 7,27 „ 9,17 „ 10,32.

Spektrum in Pyridin-Äther:

I. 675,4—642,4; II. 613,3—598,3; III. 556,6; IV. 537,0—529,3; V. 519,4—489,7;
 658,9 605,8 533,2 504,6
 E.A. 434; R.d.I. I, V, IV, II, III.

Monochlor-9-oxy-desoxo-meso-phäophorbid a-dimethylester.

9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a wird in 20proz. Salzsäure gelöst, mit dem gleichen Volumen Äther durchgeschüttelt und im Sonnenlicht stehen gelassen. Nach mehreren Stunden resultiert ein rotbrauner Körper von folgendem Spektrum:

I. 687,4—653,8; II. 614,0; III. 550,3—539,3; IV. 519,1—498,7; E.A. 442;
 670,6 544,8 508,9

R.d.I. I, III, IV, II.

Dasselbe Spektrum erhält man, wenn man Meso-isochlorin e_4 -6-aldoxim dieser Behandlung aussetzt.

Meso-isochlorin e₄-6-aldoxim-dimethylester (V)

200 mg 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a werden in 40 ccm Pyridin gelöst und mit 400 mg Hydroxylaminhydrochlorid und mit 400 mg cale. Soda 5 Minuten auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Es erfolgt sofort Farbumschlag nach Grün. Man gibt nun in Äther, entfernt mit sehr verdünnter Salzsäure das Pyridin und wäscht neutral. Die Lösung wird eingeeengt und über Aluminiumoxyd chromatographiert. Das Oxim bleibt am Adsorbens hängen. Diese Schicht wird herausgenommen, in Eisessig wiederholt aufgeschlämmt, vom festen Bestandteil jeweils abgesaugt und schließlich werden die vereinigten Lösungen in Äther gegeben. Der Eisessig wird mit verd. Lauge herausgewaschen. Das Oxim kristallisierte nicht.

Spektrum in Pyridin-Äther:

I. 678,7—635,2; Ia. 622,5; II. 610,0—593,2; III. 552,0; IV. 528,4;
656,9 601,6
V. 513,5—480,0; E.A. 419; R.d.I. I, V, II, IV, III, Ia.
496,8

An dem Chromatogramm des Oxims fällt auf, daß es zwei klar voneinander getrennte Ringe bildet, die in Ätherfarbe, Spektrum und Extraktionszahl identisch sind. Das Oxim reagiert in Essigester weder bei Zimmertemperatur noch in der Siedehitze mit Raneynickel.

Meso-isochlorin e₄-6-nitril-dimethylester (VI)

200 mg Meso-isochlorin e₄-6-aldoxim werden in 30 ccm Essigsäureanhydrid gelöst. Dazu gibt man 400 mg frisch geschmolzenes Natriumacetat und erhitzt eine Stunde am Rückflußkühler zum Sieden. Man treibt in Äther, schüttelt wiederholt und kräftig mit verdünnter Lauge bis zur alkalischen Reaktion durch, wäscht neutral und chromatographiert über Aluminiumoxyd. Der Nitrildimethylester, der aus Äther in schräg abgeschnittenen Prismen vom Schmp. 205° kristallisiert, geht durch die Säule hindurch, während ein Teil mit Spektrum und Extraktionszahl des Oxims am Anfang der Säule hängen bleibt. So beträgt die Ausbeute an Nitril nur etwa 50%. Extraktionszahl 16.

Das Spektrum des Nitrils ist gegen das des Oxims nur wenig nach Rot verschoben, doch ist Bande IV wesentlich intensiver. Mit Material anderer Darstellungsweise besteht spektroskopisch Identität, wohingegen aber die Schmelzpunkte differieren. Das aus 6-Brom-meso-isochlorin e₄ durch Umsetzung mit Kupfercyanür erhaltene synthetische Nitril²⁵⁾ schmilzt bei 208°, das aus Isochlorin e₄-6-säureamid mit Essigsäureanhydrid und nachträglicher Hydrierung bei 202°²⁶⁾ und das aus Meso-isochlorin e₄-6-säureamid mit Essigsäureanhydrid²⁷⁾ erhaltene Nitril bei 204°.

Beim Erwärmen mit farbloser Jodwasserstoffsäure-Eisessig auf 70° ist nach 2 Minuten vollständig Dehydrierung zu einem Porphyrin eingetreten, das gegen Isochloroporphyrin e₄ stark nach Rot verschoben ist und zum Teil etwas verwaschene Banden besitzt.

10-Oxy-meso-phäophorbid a-dimethylester (VII) und 9,10-Dioxy-desoxo-meso-phäophorbid a-dimethylester (VIII)

300 mg 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a werden in 45 ccm Pyridin gelöst, mit 300 mg Permanganat und 6 ccm Wasser geschüttelt. Nach 45 Minuten gießt man in 3 l Äther. Mit viel Wasser wird der gebildete Braunstein entfernt und mit 10proz. Salzsäure Pyridin und nicht umgesetztes Ausgangsmaterial entzogen. Die

²⁵⁾ H. Fischer, F. Baláz, F. Gerner und M. Königer, A. 557, 170 (1947).

²⁶⁾ l. c. S. 169.

²⁷⁾ l. c. S. 169.

im Restäther verbleibende Substanz wird nach Einengen desselben über Aluminiumoxyd chromatographiert.

Als erstes geht eine Substanz durch die Säule hindurch, die sich mit etwas braun stichiger Farbe in Äther leicht löst und in langen Nadeln vom Schmp. 128° schmilzt. Ausbeute 25%.

4,482 mg Subst. (bei 70° i. H.v. getr.): 11,290 mg CO₂ und 2,749 mg H₂O.

C₃₆H₄₀O₇N₄ Ber. C 67,46 H 6,30

(640,34) Gef. „ 68,70 „ 6,86.

Spektrum in Pyridin-Äther:

I. 675,5—636,9; Ia. 624,0; II. 610,2—595,3; III. 553,3; IV. 536,1—524,7;
656,2 602,8 530,4

V. 514,4—483,4; E.A. 440; R.d.I. I, V, IV, II, III, Ia.
498,9

Mit Hydroxylamin und mit Benzoylchlorid tritt keine Reaktion ein. Farblose Jodwasserstoffsäure bei 70° ergibt kein Porphyrin, dagegen beim 48stündigen Stehen bei Zimmertemperatur. Es ist vermutlich 9.10-Dioxy-desoxo-meso-phäophorbid a (VIII).

Dann geht ein in Äther blaugrün gefärbter Körper hindurch, der in feinen Nadelchen kristallisiert. Bei 225° beginnt die Substanz zu schmelzen, ohne daß sie bei 245° schon durchgeschmolzen wäre. Ausbeute 10%.

Spektrum in Pyridin-Äther:

I. 669,0—638,8; Ia. 623,7; II. 605,2—592,0; III. 550,1; IV. 527,7—520,0;
653,9 598,6 523,9

V. 505,5—480,9; E.A. 428; R.d.I. I, V, IV, II, III, Ia.
493,2

Mit Hydroxylamin und mit Benzoylchlorid tritt keine Reaktion ein. Es handelt sich um 10-Oxy-meso-methylphäophorbid a (VII).

Teilsynthese von Meso-phäophorbid a-methylester

100 mg 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a werden in 15 cem Eisessig gelöst und mit 300 mg Chinon zum Sieden erhitzt. Nach 15 Minuten wird die Reaktion durch Eingießen in Äther unterbrochen. Mit 10proz. Salzsäure entzieht man unverändertes Ausgangsmaterial und das Reaktionsprodukt geht dann in 20proz. Salzsäure. Die salzsaure Fraktion schüttelt man zur restlosen Entfernung des Chinons mit wenig Äther durch und treibt anschließend durch Verdünnen mit Wasser in frischen Äther. Nach Einengen des Lösungsmittels wird über Aluminiumoxyd chromatographiert, wobei zuerst das Meso-phäophorbid a durch die Säule hindurchwandert. Trotz mehrfacher Wiederholung dieser Reinigungsmethode konnte es nicht kristallisiert erhalten werden. Ausbeute etwa 2%.

Spektroskopisch besteht Identität mit analytischem Material. Die Dehydrierung mit farbloser Jodwasserstoffsäure in Eisessig bei 70° führt einwandfrei zu Phäoporphyrin a₃, während der Abbau mit starkem methylalkoholischem Kali spektroskopisch Meso-chlorin e₈ ergibt.

Als zweite Substanz geht ein Körper durch die Aluminiumoxydsäule hindurch, der spektrale Ähnlichkeit mit analytischem 9-Oxy-desoxo-meso-methylphäophorbid a besitzt, also nach Blau verschoben ist gegenüber Meso-phäophorbid a.

Über die Anlagerung von Schwefelverbindungen an die β,β -Dimethylacrylsäure. — Synthesen der β,β -Dimethyl- α -aminopropionsäure, dl-Penicillamin

Von Oskar Süs

[Eingelaufen am 3. Nov. 1947]

Das d-Penicillamin konnte von englischen und amerikanischen Forschern¹⁾ beim Säureabbau des Penicillins als Spaltprodukt isoliert werden. Es wurde als β,β -Dimethyleystein erkannt und ist Bestandteil des im Penicillin vorhandenen Thiazolidinringes. Bei Versuchen zum synthetischen Aufbau des Penicillins²⁾ hat es als Aufbaukomponente gedient.

Das Ziel der Arbeit war die Auffindung einer einfachen Darstellungsmethode für dieses Cysteinhomologe.

Für das Cystein selber sind in der Literatur nur wenige Synthesen bekannt geworden. Die Synthesen von Erlenmeyer³⁾ und E. Fischer⁴⁾ verlaufen mit schlechter Ausbeute. Eine von Wood und du Vigneaud⁵⁾ beschriebene neuere Darstellungsmethode läßt sich in ihren ersten Stufen für den Aufbau des Penicillamins nicht verwenden.

Als ein geeignetes Ausgangsmaterial für die Synthese des β,β -Dimethyleysteins erschien uns die β,β -Dimethylacrylsäure, die technisch leicht zugänglich ist⁶⁾. Bei der Nitrierung ihres Äthylesters erhielt Bouveault⁷⁾ den α -Nitro- β,β -dimethylacrylsäureäthylester und hieraus durch Reduktion den α -Amino- β,β -dimethylacrylsäureäthylester⁸⁾. In der Anlagerung von Schwefelwasserstoff, Mercaptanen oder organischen Thiosäuren an die Doppelbindung des Aminoesters schien uns ein Weg für die Darstellung des Penicillamins gegeben.

Über die Anlagerung von Schwefelverbindungen an die Doppelbindung der Dimethylacrylsäure und ihrer Substitutionsprodukte sind in der Literatur keine Angaben zu finden. Die Anlagerungsfähigkeit der Doppelbindung dieser Verbindungsreihe für Schwefelwasserstoff und seine Abkömmlinge wurde zunächst an der Dimethylacrylsäure selber studiert. Holmberg und Schjanberg⁹⁾ beschreiben einen Weg zur Darstellung von aliphatischen Acetylmercaptocarbonsäuren durch

¹⁾ Z. f. Naturforschung 1946, Bd. I, S. 171.

²⁾ Chem. Abstr. 41 (1947), S. 972.

³⁾ B. 36, S. 2720 (1903).

⁴⁾ B. 41, S. 893 (1908).

⁵⁾ J. biol. Ch. 131, S. 267.

⁶⁾ Barbier, Léser, Bl. (3), 33, S. 815.

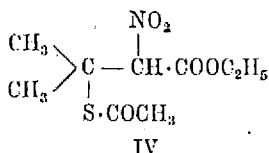
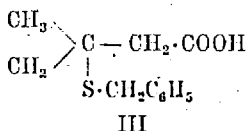
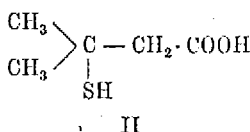
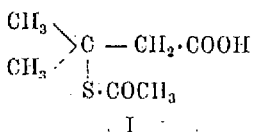
⁷⁾ Bl. Soc. Chim. 25, (3), S. 801.

⁸⁾ Bl. Soc. Chim. 25, (3), S. 913.

⁹⁾ Afk. Kemi, Min. o. G., 14, A. No. 7.

Anlagerung von Thioessigsäure an ungesättigte Säuren, u. a. der β -Acetylmercaptopropionsäure bei der Umsetzung von Acrylsäure mit Thioessigsäure. Die Umsetzung geht schon unter sehr milden Bedingungen vor sich und verläuft mit guter Ausbeute.

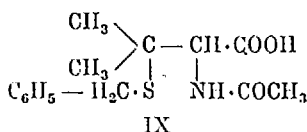
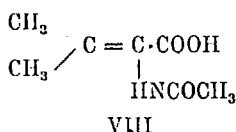
Bei der Übertragung dieser Anlagerungsreaktion auf die β,β -Dimethylacrylsäure gelang es erst unter verschärften Versuchsbedingungen, die β,β -Dimethyl- β -acetylmercaptopropionsäure (I) in nur schlechter Ausbeute darzustellen. Die Doppelbindung verhält sich Schwefelverbindungen gegenüber sehr träge. Die Anlagerung von Schwefelwasserstoff zu II sowie Benzylmercaptan zu III gelang in befriedigender Ausbeute erst bei Anwendung basischer Katalysatoren.



Nachdem Versuche zur vorsichtigen Einführung vom Halogen in die α -Stellung der Verbindungen I, II und III nicht zu dem gewünschten Ergebnis führten, wurde die Anlagerungsreaktion von Thioessigsäure an ungesättigte Säuren auf den α -Nitro- β,β -dimethylacrylsäureäthylester übertragen. Überraschenderweise verlief hier die Umsetzung sehr glatt. Verbindung IV konnte in guter Ausbeute isoliert werden. Durch den Eintritt der negativen Gruppe erfährt die Doppelbindung im Vergleich zur Dimethylacrylsäure eine Aktivierung¹⁰⁾.

Bei der Reduktion der α -ständigen Nitrogruppe in IV zur Amino-Gruppe konnte man die Entstehung des β,β -Dimethyl- β -acetylmerkapto- α -aminopropionsäureäthylesters erwarten, der nach der Verseifung Penicillamin ergeben sollte. Zunächst wurde die Reduktion unter milden Bedingungen mit dem für aliphatische Nitroverbindungen bewährten Aluminiumamalgam versucht. Sie nahm jedoch einen anormalen Verlauf. Als Hauptprodukt konnte der schön kristallisierende α -Acetaminodimethylacrylsäureäthylester isoliert werden. Das Auftreten von Schwefelwasserstoff war zu beobachten. Der Reaktionsverlauf erklärt sich wie folgt: Bei dem aus der Nitroverbindung intermediär entstandenen S-Acetyl-penicillamin erfolgt Acylwanderung vom Schwefel zum

¹⁰⁾ Siehe auch Handb. der Katalyse, G. M. Schwab, Bd. VII, 2. Teil, S. 114, Abschn. b.



In Vorversuchen war es uns gelungen, in glatter Reaktion in Anwesenheit von basischen Katalysatoren Benzylmercaptan an die leicht zugängliche α -Acetaminosäure und α -Acetaminoacrylsäure anzulagern. Bei der Übertragung der Reaktionen auf die α -Acetamino- β,β -dimethyiacrylsäure mußten wesentlich schärfere Versuchsbedingungen angewandt werden. Die Reaktionsträgheit der Doppelbindung im Vergleich zu den Modellverbindungen tritt hier deutlich in Erscheinung. Es gelang schließlich, die α -Acetamino- β -benzylmerkapto- β,β -dimethyiacrylsäure (IX) in befriedigender Ausbeute darzustellen.

Die freie Aminosäure entsteht aus IX bei der sauren Verseifung. Die Benzylgruppe in X läßt sich nach der Methode von Wood und du Vigneaud¹³⁾ abspalten, wobei das dl- β,β -Dimethylcystein, dl-Penicillamin (VII) entsteht. Die Abspaltung der Benzylgruppe gelingt auch bei längerem Erhitzen der Benzylverbindung mit Bromwasserstoffsäure, wobei beim starken Einengen der sauren Lösung das Bromhydrat von dl-Penicillamin (VII) auskristallisiert.

Bei der Entbenzylierung von Verbindung IX nach der ersten Methode ließ sich das N-Acetyl- β,β -dimethylcystein vom F.P. 183° darstellen, das sich als identisch erwies mit Verbindung V.

Herrn Dr. Neugebauer danke ich für einige für den Fortgang der Arbeit wichtige Literaturhinweise.

Versuche

β,β -Dimethyl- β -acetylmerkapto-propionsäure (I)

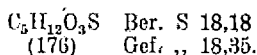
Die für die Anlagerungsreaktion benötigte β,β -Dimethyiacrylsäure wurde hergestellt nach der Methode von Barbier und Léser¹⁴⁾. Sie läßt sich in größerem Maßstab herstellen und bei Verwendung einer sehr konzentrierten Chlorlauge für die Oxydation des Mesityloxyds ohne die Mitverwendung von Lösungsmitteln durch direkte Fällung mit Säure aus der alkalischen Oxydationslauge isolieren. Die Reinigung geschieht am vorteilhaftesten durch Destillation i. V. Sdp. 95–98° (12 mm).

10 g β,β -Dimethyiacrylsäure werden mit 9 g Thioessigsäure im geschlossenen Rohr 6 Std. bei 125–130° erhitzt. Die Reaktionsflüssigkeit läßt sich bei der fraktionierten Destillation i. V. gut in 2 Hauptfraktionen trennen. In dem Intervall 96–98° (14 mm) geht unveränderte Dimethyiacrylsäure über, die in der Vorlage erstarrt. Die zweite Hauptfraktion, zwischen 130 und 145°, enthält das Anlagerungsprodukt mit einem Sdp. von 145–148° (14 mm) nach nochmaliger Fraktionierung

¹³⁾ l. c.

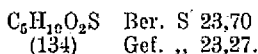
¹⁴⁾ l. c.

des Rohdestillates. Es stellt ein kaum gefärbtes, viskoses Öl dar. Ausbeute: 2,5 g.



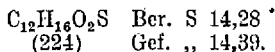
β,β -Dimethyl- β -merkaptopropionsäure (II)

Zu einer Alkoholatlösung aus 0,1 g Na in 50 ccm Alkohol werden 10 g β,β -Dimethylacrylsäure und 8,5 ccm Piperidin gegeben. Unter Eiskühlung wird die Lösung mit Schwefelwasserstoff gesättigt und im Bombenrohr 15 Std. bei 120° erhitzt. Nach dem Verdampfen des Alkohols hinterbleibt ein farbloser Sirup. Das beim Ansäuern mit verdünnter Salzsäure sich abscheidende Öl wird in Äther aufgenommen und die ätherische Schicht mit Wasser gewaschen und dann so lange mit 10proz. Natriumbicarbonatlösung ausgezogen, bis eine Probe beim Ansäuern keine Trübung mehr gibt. Die gesammelten Auszüge werden mit verdünnter Salzsäure angesäuert und das ausgefallene Öl in Äther aufgenommen. Nach dem Verdampfen des Äthers unterwirft man das hinterbliebene Öl der fraktionierten Destillation i. V. Von 90—110° (12 mm) geht unveränderte Dimethylacrylsäure mit wenig Merkaptopropionsäure über (1 g). Die Fraktion von 110—118° enthält in der Hauptsache das Reaktionsprodukt mit noch unveränderter Dimethylacrylsäure (8 g). Bei nochmaliger Fraktionierung des letzteren Destillates konnte die Merkaptopropionsäure vom Sdp. 118—120° (12 mm) als ein in derben, weißen Prismen erstarrendes Öl isoliert werden. Sie schmilzt bei 38°. Mit Nitroprussidnatrium gibt sie eine kräftige SII-Reaktion, mit Quecksilberchlorid eine weiße Fällung. Ausbeute 2 g. Der Hauptanteil verbleibt in der Vorfraktion im Gemisch mit Dimethylacrylsäure. Die Trennung gelingt nicht vollständig, auch nicht bei wiederholter Fraktionierung, wobei immer wieder etwas Merkaptopropionsäure im reinen Zustand gewonnen werden kann.



β,β -Dimethyl- β -benzylmerkaptan-propionsäure (III)

Zu einer Alkoholatlösung aus 0,08 g Na in 40 ccm abs. Alkohol werden nacheinander 8 g Dimethylacrylsäure, 9,6 g Benzylmerkaptan und 6,8 ccm Piperidin gegeben und das Gemisch 8 Std. bei 100° im geschlossenen Rohr erhitzt. Nach dem Verdampfen des Alkohols und Ansäuern des Rückstandes mit verd. Salzsäure hinterbleibt ein dickes Öl, das in Äther aufgenommen wird. Durch mehrmaliges Ausziehen mit 10proz. Natriumbicarbonatlösung und zum Schluß mit wenig 10proz. Sodälösung wird der Ätherlösung das Umsetzungsprodukt zusammen mit nicht umgesetzter Dimethylacrylsäure entzogen. Nach dem Ansäuern der alkalischen Auszüge wird das abgeschiedene Öl wieder in Äther übergeführt und der Destillation i. V. unterworfen. Bei 95—96° (12 mm) geht unveränderte Dimethylacrylsäure über. Das Anlagerungsprodukt siedet scharf bei 195° (12 mm). Farblose, viskose Flüssigkeit von üblem Geruch. Ausbeute 7 g.



α -Nitro- β,β -dimethyl- β -acetylmerkaptopropionsäureäthylester (IV)

Der als Ausgangsmaterial benötigte α -Nitro- β,β -dimethylacrylsäureäthylester wurde nach der von Bouveault¹⁵⁾ gegebenen Vorschrift dargestellt mit der Abänderung, daß an Stelle von rauchender Salpetersäure eine etwa 80proz. Säure angewandt wurde. Die Menge des als Nebenprodukt entstehenden Dinitroessigsäure-

¹⁵⁾ l. c.

äthylesters (sodalöslicher Anteil des Nitrierungsgemisches) läßt sich dadurch zu Gunsten der Ausbeute an Nitrodimethylacrylsäureester vermindern.

17,3 g Nitroester werden im Druckrohr mit 18 g Thioessigsäure 10 Std. bei 100° erhitzt. Die gelbbraun gefärbte Flüssigkeit wird in Äther gegossen und die Ätherlösung zwecks Entfernung von überschüssiger Thioessigsäure so lange mit Wasser gewaschen, bis die SH-Reaktion mit Nitroprussidnatrium nur mehr schwach ausfällt. Das nach dem Verdampfen des Äthers hinterbliebene braungelbe Öl wird i. Hv. destilliert. Neben einem geringen Vorlauf (100—118°) destilliert das Anlagerungsprodukt bei 124—130° (2—3 mm) über. Ausbeute 18 g. Verbindung IV stellt ein tief braungelb gefärbtes Öl dar mit einem für organische Schwefelverbindungen charakteristischen Geruch.

$C_7H_{11}O_4N$	Ber. N 5,62	S 12,85
(249)	Gef. „ 5,73, 5,58	„ 12,90, 12,81.

Reduktion von Verbindung IV

a) *Mit Aluminiumamalgam.* Aus 15 g feinsten Aluminiumspäne wurde in üblicher Weise Amalgam bereitet. Nach Überschichten mit 300 ccm Äther wurde unter schwacher Eiskühlung und Rühren die Lösung von 20 g von Verbindung IV in 100 ccm Äther innerhalb 1 Std. zugegeben. Gleichzeitig wurden 30 ccm Wasser zutropft. Nach etwa 5stündigem Weiterrühren, wobei die Entstehung von H_2S beobachtet werden konnte, wurde nochmals Amalgam (aus 5 g Aluminium) und tropfenweise 10 ccm Wasser nachgegeben. Nach dem Stehen über Nacht wurde filtriert und der rückständige Aluminiumoxydschlamm mehrere Male mit Äther ausgezogen. Die Ätherlösung der vereinigten Filtrate hinterließ nach dem Trocknen mit Glaubersalz und Einengen i. V. bei etwa 30° ein rothraunes, viskoses Öl. Nach einigem Stehen in Eis und kräftigem Reiben schieden sich lange, weiße Nadeln ab. Beim Digerieren mit abs. Äther und Zugabe von Petroläther verwandelte sich das gesamte Öl in eine weiße, kristalline Masse. Nach dem Absaugen und Waschen mit Petroläther wurde das Produkt aus wenig Äther, dem bei beginnender Kristallisation etwa die 2fache Menge Petroläther allmählich zugesetzt wurde, umkristallisiert. Lange, weiße Nadeln vom Schmp. 71—72°. Die Verbindung erwies sich als identisch mit dem auf anderem Wege dargestellten α -Acetylamino- β , β -dimethylacrylsäureäthylester (s. S. 99).

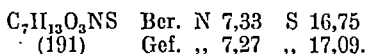
b) *Mit Zinkstaub-Eisessig.* Zu einer Lösung von 43 g von Verbindung IV in 300 ccm Eisessig wurden ohne äußere Kühlung unter Rühren 100 g Zinkstaub in kleinen Portionen innerhalb 1 Std. gegeben. Die Temperatur stieg bis gegen 60° und wurde 10 Stunden lang auf dieser Höhe gehalten. Von überschüssigem Zinkstaub wurde dann abfiltriert und der Eisessig bei etwa 40° i. V. verdampft. Der hinterbliebene gelbbraune Sirup wurde zweimal mit Äther unter schwachem Erwärmen ausgezogen. Es hinterblieb ein heller, halbfester Rückstand.

Die vereinigten Ätherauszüge wurden mehrere Male mit 18proz. eiskalter Salzsäure durchgeschüttelt. Die salzsauren Auszüge enthielten eine Base, die sich bei Zugabe von Ammoniakwasser bis zur alkalischen Reaktion unter Eiskühlung als dünnflüssiges Öl an der Flüssigkeitsoberfläche abschied. Sie wurde in Äther aufgenommen und durch nochmaliges Ausziehen mit verdünnter Salzsäure in der vorhergehenden Weise gereinigt. Die nach dem Abdestillieren des Äthers hinterbliebene Base siedet bei 91—92° (2 mm) und geht fast rückstandslos und ohne Vorlauf über. Ausbeute 12 g. Die Base gab nach schwachem Erwärmen mit 10proz. NaOH eine positive SH-Reaktion und eine schwach angesäuerte Probe der alkalischen Lösung mit $FeCl_3$ eine indigoblau Färbung. Auf Grund der Analyseergebnisse handelt es sich um den 2,5,5-Trimethyl-thiazolin-4-carbonsäureäthylester (VI).

$C_9H_{15}O_2NS$	Ber. N 6,96	S 15,92
(201)	Gef. „ 7,17, 6,90	„ 16,12.

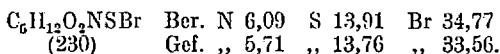
Der nach dem Digerieren mit Äther verbliebene sirupöse Rückstand wurde mit 50 ccm 10proz. Natronlauge etwa 10 Minuten lang am Wasserbad erhitzt. Nach Filtration

der alkalischen Flüssigkeit wurde mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Beim kräftigen Reiben kristallisierte das *N-Acetylpenicillamin* (V) aus. Ausbeute 3 g. Aus Wasser umkristallisiert erscheint es in derben, durchsichtigen Kristallen vom Schmp. 183° (u. Z.).



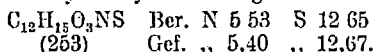
Überführung von Verbindung VI in dl-Penicillamin (VII)

1 g von Verbindung VI wird mit 10 ccm Bromwasserstoffsäure ($d=1,49$) versetzt und die Lösung unter Durchleiten von Stickstoff 3 Std. lang unter Rückflußkühlung zum Sieden erhitzt. Nach Filtration mit Kohle wird die Flüssigkeit i. V. bei 50—55° bis auf ein sehr kleines Volumen eingeeengt. Nach dem Stehen über Nacht kristallisiert das Bromhydrat des Penicillamins aus. Schmp. 93°, bei 140° tritt spontane Zersetzung ein.



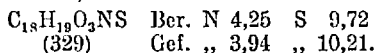
Acetamino- β -benzylmercaptopropionsäure (*S-Benzyl-N-acetylcystein*)

0,6 g α -Acetaminoacrylsäure¹⁶⁾ werden in 3 ccm Alkohol gelöst und mit 0,8 ccm Piperidin und 0,6 g Benzylmercaptan versetzt. Beim Durchschütteln des Gemisches tritt Selbsterwärmung ein. Nach 10stündigem Erwärmen auf 70° wird die Lösung in Äther gegossen. Das Reaktionsprodukt wird dem Äther durch Ausschütteln mit einer 10proz. Natriumbicarbonatlösung entzogen und beim Ansäuern als weiße, kristalline Masse zur Abscheidung gebracht. Aus Alkohol-Wasser umkristallisiert, Schmp. 158°. Es wurde von Wood und du Vigneaud¹⁷⁾ auf anderem Wege als Zwischenprodukt bei einer Cysteinsynthese dargestellt.



Acetyl-amino- β -benzylmerkapto- β -phenyl-propionsäure

1 g α -Acetyl-amino-zimtsäure¹⁸⁾ wird mit 2,5 ccm Alkohol, 0,8 g Benzylmercaptan und 0,8 ccm Piperidin versetzt und das Gemisch 10 Std. bei 70° erwärmt. Nach dem Verdampfen des Alkohols hinterbleibt ein sirupöser Rückstand. Überschüssiges Benzylmercaptan wird durch Digerieren mit Äther entfernt und dann der verbliebene Rückstand angesäuert. Durch Zugabe von Äther, in dem es schlecht löslich ist, wird das Anlagerungsprodukt in Lösung gebracht und durch mehrmaliges Ausziehen mit 10proz. Natriumbicarbonatlösung und Ansäuern des alkalischen Auszuges als weiße, kristalline Masse isoliert. Aus Methylalkohol-Wasser umkristallisiert schmilzt es bei 132° (unscharf).



Acetamino- β , β -dimethylacrylsäure

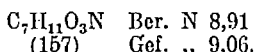
a) aus β -Oxyvalin. 2 g β -Oxyvalin werden mit 4 ccm Essigsäureanhydrid etwa 5 Min. lang erhitzt. Das Oxyvalin geht dabei in Lösung, wobei eine schwache Gelbfärbung auftritt. In diesem Stadium gießt man die Flüssigkeit auf die gleiche

¹⁶⁾ H. 187, 191 (1930); J. Am. Soc. 61, S. 483 (1939).

¹⁷⁾ l. c.

¹⁸⁾ Erlenmeyer, A. 337, S. 265 (1904).

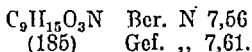
Menge Eis. Nach kurzem Stehen und einigem Reiben kristallisiert die Acetaminodimethylacrylsäure aus. Das Rohprodukt schmilzt bei 203°. Der Schmelzpunkt steigt beim Umkristallisieren aus Wasser nicht mehr.



b) durch Verseifung des Esters. Der Amino- β , β -dimethylacrylsäureester wurde nach der Methode von Bouveault¹⁹⁾ durch Reduktion des Nitroesters mit Aluminiumamalgam dargestellt. Der in Salzsäure unlösliche Anteil des Reduktionsproduktes ist recht erheblich. Das aus dem löslichen Anteil gewonnene Öl destilliert zum größten Teil bei 58–65° (1–2 mm). Bei dem hinterbliebenen Rückstand, der wesentlich höher siedet und ein grünelbes Destillat gibt, dürfte es sich um ein Umwandlungsprodukt des leicht veränderlichen Aminoesters handeln. Für die Weiterverarbeitung auf die α -Acetaminodimethylacrylsäure wurde, nachdem sich eine Reinigung durch Destillation als unvorteilhaft erwiesen hatte, der in Salzsäure lösliche Anteil des Rohöls direkt acetyliert und die Acetylverbindung verseift.

Zu 104 g Essigsäureanhydrid werden in mehreren Anteilen 49 g Aminoester gegeben. Das Gemisch erwärmt sich kräftig, so daß zeitweilig gekühlt werden muß. Nach einigem Stehen erwärmt man zur Vervollständigung der Reaktion etwa 1 Stunde am Wasserbad. Überschüssiges Essigsäureanhydrid und Eisessig werden i. V. bei 50–60° entfernt. Der ölige Rückstand (45 g) erstarrt bisweilen bei einigem Stehen kristallin.

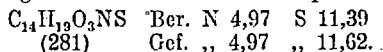
Die Acetylverbindung des Aminoesters läßt sich aus dem Kristallinat durch Umkristallisieren ans Benzol/Gasolin in Form von fächerförmig angeordneten langen Nadeln isolieren. Nach zweimaligem Umkristallisieren zeigte sie einen Schmp. von 72–73°. Sie ist merkwürdigerweise in Wasser löslich.



Zur Weiterverarbeitung auf Verbindung VI wurde das nach dem vorhergehenden Versuch gewonnene rohe Acetylierungsprodukt (45 g) mit 200 ccm 10proz. NaOH versetzt und am gut siedenden Wasserbad einige Stunden erhitzt. Die Ölschicht an der Flüssigkeitsoberfläche verschwindet fast völlig. Nach Durchschütteln mit etwas Äther wird die alkalische Flüssigkeit unter Kühlung mit conc. Salzsäure angesäuert, wobei die α -Acetaminodimethylacrylsäure auskristallisiert. Ausbeute 9–12 g. Das aus Wasser umkristallisierte Produkt schmilzt bei 203° und ist mit dem nach a) erhältlichen Produkt identisch.

β , β -Dimethyl- β -benzylmerkapto- α -acetylaminopropionsäure IX

12 g α -Acetaminodimethylacrylsäure werden mit 45 ccm Alkohol, 22 ccm Benzylmercaptan und 18 ccm Piperidin versetzt und das Gemisch in einer Druckflasche 10 Std. bei 150° erhitzt. Die Lösung wird in etwa $\frac{1}{2}$ l Äther übergeführt und angesäuert. Nach dem Waschen mit 150 ccm Wasser entzieht man dem Äther das Anlagerungsprodukt durch mehrmaliges Ausziehen mit insgesamt 200 ccm 10proz. Natriumbicarbonatlösung. Beim Ansäuern der Extrakte mit Salzsäure fällt Verbindung VII zunächst ölig aus, erstarrt aber nach kurzem Reiben zu einer weißen kristallinen Masse. Ausbeute 9 g. Aus Alkohol-Wasser Schmp. 176°.

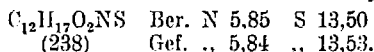


β , β -Dimethyl- β -benzylmerkapto- α -aminopropionsäure

9 g von Verbindung IX werden mit 200 ccm etwa 30proz. Salzsäure versetzt und das Gemisch 6 Std. am Rückflußkühler erhitzt. Die Acetylverbindung geht bald

¹⁹⁾ l. c.

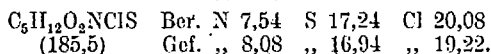
in Lösung und an der Flüssigkeitsoberfläche scheiden sich geringe Mengen eines braunen Öles ab. Nach Filtration der Lösung mit Kohle scheidet sich beim Erkalten bisweilen das Hydrochlorid der Base aus. Ohne Rücksicht darauf wird die saure und mit Kohle filtrierte Lösung mit conc. Ammoniak bis zum Verschwinden der kongo-sauren Reaktion versetzt. Die Aminocarbonsäure fällt in Form schöner, perlmutterglänzender Plättchen aus. Ausbeute 5 g. Aus viel Wasser umkristallisiert schmilzt sie bei 207° (Zers.), bei raschem Erhitzen bei 212°.



Überführung von Verbindung IX in dl- β , β -Dimethyleystein, dl-Penicillamin (VI)

a) Nach der Methode von Wood und du Vigneaud²⁰⁾

5 g von Verbindung IX werden in einem Dreihalskolben in 80 ccm flüssigem Ammoniak suspendiert und allmählich unter Rühren bei -50° bis -40° metallisches Natrium in dünnen Scheiben eingetragen. Die auftretende Blaufärbung verschwindet anfänglich bald wieder. Nach einem Verbrauch von 1,8 g Natrium bleibt die Farbe bestehen. Das überschüssige Na wird durch Zugabe von Ammonchlorid in kleinen Portionen entfernt, was der Fall ist, wenn die Blaufärbung verschwunden ist. Nach Entfernung der Kühlung und Verflüchtigung des Ammoniaks hinterbleibt ein weißer Rückstand. Durch Digerieren mit etwas Äther wird das entstandene Toluol entfernt und mit conc. Salzsäure unter starker Kühlung unter Äther angesäuert. Der nach der Filtration hinterbliebene Salzzrückstand wird zweimal mit je 100 ccm kaltem abs. Alkohol digeriert, wobei das Penicillaminhydrochlorid in Lösung geht. Der Salzzrückstand gibt noch positive Eisenchloridreaktion, enthält aber nur mehr wenig Penicillamin. Die alkoholische Lösung wird i. V. bei etwa 40° eingeeengt. Die mit in Lösung gegangenen Ammonsalze fallen während des Einengens aus und werden durch Filtration entfernt. Aus der bis zur sirupösen Konsistenz eingeeengten Lösung kristallisiert beim kräftigen Reiben und Stehenlassen über Nacht das Hydrochlorid der Aminosäure aus. Durch Zugabe von abs. Äther verwandelt sich der Rückstand in eine leicht filtrierbare Masse. Das schon reinweiße Produkt wird durch Lösen in sehr wenig warmem abs. Alkohol und Fällen mit Äther gereinigt. Ausbeute 2 g. Wie das Cystein gibt das Penicillamin mit Eisenchlorid eine indigoblaue Färbung. Das salzsaure Salz schmilzt unscharf bei 118° und zersetzt sich ab 156°.



Die Analysenwerte deuten auf einen geringen Gehalt an Ammonchlorid hin, das nur schwer restlos zu entfernen ist.

b) durch Erhitzen mit Bromwasserstoffsäure

In 5 g S-Benzyl-penicillamin werden 50 ccm Bromwasserstoffsäure (d = 1,49) etwa 15 Std. im schwachen Stickstoffstrom unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Das sich absaltende Benzylbromid ist deutlich durch seinen Geruch zu erkennen und setzt sich während des Erhitzens in Form einer harzigen Schicht an der Flüssigkeitsoberfläche ab. Die Reaktion ist beendet, wenn aus einer der Lösung entnommenen Probe beim Abkühlen keine kristalline Abscheidung mehr eintritt. Die mit Kohle filtrierte Lösung wird i. V. bei etwa 60° sehr stark eingeeengt. Beim Abkühlen kristallisiert das Bromhydrat des dl-Penicillamins aus.

²⁰⁾ l. c.

Durch Lösen in sehr wenig absolutem Alkohol und Fällen mit viel absolutem Äther läßt es sich rein weiß erhalten und schmilzt bei 93°. Mit Verbindung VII besteht vollkommene Identität. Ausbeute 3 g bis 5,5 g.

$C_5H_{12}O_2NSBr$ Ber. N 6,09 S 13,91 Br 34,77
(230) Gef. „ 6,19 „ 13,65 „ 33,94.

Darstellung des N-Acetylpenicillamins aus VIII

0,5 g von Verbindung VIII werden in etwa 12 ccm flüssigem Ammoniak suspendiert und bei etwa -50° mit dünnen Scheibchen Natrium versetzt bis zum Bestehenbleiben einer tiefen Blaufärbung der Flüssigkeit. Nach Entfärbung durch Zugabe von Ammonchlorid läßt man das Ammoniak verdunsten. Beim Aufnehmen des Rückstandes in wenig Wasser und Ansäuern fällt das N-Acetylpenicillamin in weißen Kristallen aus. Nach dem Umkristallisieren aus heißem Wasser konnte es in oft zu Rosetten vereinigten, durchsichtigen, derben Prismen erhalten werden. Schmp. 183° (Zers.). Mit einem auf anderem Wege (vgl. V) dargestellten Präparat zeigte es völlige Identität.

Beiträge und Deutungsversuche zur Reaktionsweise aromatischer Bicyclen

Von *Rolf Huisgen*

(Mit 2 Figuren im Text)

(Aus dem Chem. Laboratorium der Universität München. Außenstelle Weilheim [Obb.]

[Eingelaufen am 12. Nov. 1947]

I. Zur Bindungsfixierung im Naphthalinkern	101	a) Ringangliederung an aromatische Systeme	118
II. Die Angliederung eines dritten Ringes an Derivate des Naphthalins	103	b) Anellierungen am Naphthalinsystem	120
III. Struktur und Reaktionsweise des Naphthalinkerns	108	V. Naphtoide und benzoide Bicyclen	124
a) Der Grundzustand	109	VI. Die Reaktionsweise des Chinolins und α -Oxy-chinolins	125
b) Die reaktiven Anregungszustände	110	VII. Zur Reaktivität aromatischer Polycyclen	133
IV. Anellierung und Anregungsstrukturen in der Naphthalinreihe	118	Experimenteller Teil	135

I. Zur Bindungsfixierung im Naphthalinkern

Die hervorragende technische Bedeutung des Naphthalins und seiner Abkömmlinge führte schon früh zur Beschäftigung mit dem Bindungszustand dieses aromatischen Bicyclus. Es gewann bald den Anschein, als ob es der Oszillationshypothese, dieser abenteuerlichen Notlösung

zur Rettung der Doppelbindungsstrukturen des Benzols, in der Naphthalinreihe nicht bedürfe. W. Marckwald¹⁾ zog 1890 als erster die Konsequenz einer *Bindungsfixierung* des Naphthalins im Sinne des Erlenmeyerschen Formelbildes (I). Diese feste Doppelbindungsstruktur des Naphthalins war Gegenstand vieler Experimentalarbeiten bis in die neueste Zeit und fand in den meisten Fällen ungeteilte Bestätigung. Von den verschiedenartigen, zur Prüfung der Bindungsstruktur herangezogenen Reaktionen seien kurz aufgezählt:



Kupplung von β -Naphthylamin und β -Naphtol mit Diazoniumsalzen¹⁾;

Halogenierung von β -Naphtol zu Ketobromiden und Ketochloriden²⁾;

Verlauf der Skraupsynthese vom β -Naphthylamin aus³⁾;

Versuche zur Darstellung von o-Chinonen über benachbarte β -Stellungen⁴⁾;

Umlagerung von β -Naphtol-allyläthern mit und ohne α -Blockierung⁴⁾;

Überführung von β -Naphthylamin mit Benzaldehyd in Phenyl-dihydro-acridin-derivat⁵⁾;

Reaktivität durch Nitrogruppen aufgelockerten Halogens⁶⁾;

Schwächung der Basizität von Aminen durch Nitrogruppen⁷⁾;

Reduzierbarkeit von Halogen unter dem Einfluß von Amino- und Oxy-Gruppen⁸⁾;

Stabilität von Chelatringen⁹⁾;

Verätherung des β -Naphtols mit Alkohol und Schwefelsäure bei Alkylsubstitution in 1 oder 3¹⁰⁾.

In all diesen Fällen handelt es sich um elementare Reaktionen, bei denen der Einfluß des Doppelbindungssystems völlig durchsichtig ist. Läßt man diese Vorsicht außer acht und versucht etwa, aus dem alles

¹⁾ W. Marckwald, B. **23**, 1015 (1890); A. **274**, 331 (1893).

²⁾ Th. Zincke und Kegel, B. **21**, 3348, 3540 (1888); K. Fries und K. Schimmelschmidt, A. **484**, 245 (1930).

³⁾ Z. Skraup und Cobenzl, Mh. **4**, 438 (1883).

⁴⁾ L. Claisen, B. **45**, 3157 (1912); L. F. Fieser und W. C. Lothrop, Am. **57**, 1459 (1935).

⁵⁾ K. Fries, A. **454**, 121 (1927).

⁶⁾ J. Salkind, B. **64**, 289 (1931); N. Mc Leish und N. Campbell, Soc. **1937**, 1103.

⁷⁾ H. H. Hodgson und H. S. Turner, Soc. **1943**, 635.

⁸⁾ H. Franzen und G. Stäuble, J. prakt. Chem. **101**, 58 (1921); R. B. Sandin und T. H. Evans, Am. **61**, 2916 (1939).

⁹⁾ W. Baker und G. N. Carruthers, Soc. **1937**, 479.

¹⁰⁾ Henry, B. **10**, 2041 (1877); R. Wegscheider, Mh. **16**, 140 (1895); Davis, Soc. **77**, 33 (1900).

andere als abgeklärten Problemkomplex der aromatischen Mehrfachsubstitution insgesamt Schlüsse auf den Bindungszustand zu ziehen¹¹⁾, so sind irreführende Resultate unvermeidlich. Aus der Erstsitution in α - oder β -Stellung ein Kriterium für oder gegen symmetrische Bindungsverteilung herleiten zu wollen⁵⁾, erscheint ebenfalls verfehlt.

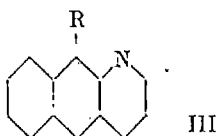
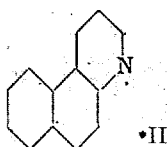
Der experimentelle Nachweis der Bindungsfixierung gründet sich letztlich auf das Fehlen der normalen Orthobeziehung zwischen benachbarten β -Stellungen. Als die wesentlichste Annahme, mit der man sich abzufinden bemühte, kann die viel diskutierte¹²⁾ Carboxylierung des β -Naphthol-Natrium gelten, die oberhalb 200° zu 2,3-Oxy-naphtoesäure führt. Die Annahme einer Hochtemperaturumlagerung in die räumliche Nachbarstellung scheidet aus, da β -Naphthol-Kalium bei 250° 2-Naphthol-6-carbonsäure¹³⁾ liefert.

Die-Reaktivität des Naphthalinkerns verliert ihre Eindeutigkeit, wenn man *Ringschlußreaktionen* in den Kreis der Betrachtungen zieht; Reaktionen also, die sich vor den intermolekularen Reaktionen durch besonders hohe Reaktionsgeschwindigkeit und Triebkraft auszeichnen.

II. Die Angliederung eines dritten Ringes an Derivate des Naphthalins

Ein im Licht unserer heutigen Kenntnis recht unglücklicher Zufall war es, daß historisch gerade der Verlauf der Skraup-Synthese bei β -Aminen des Chinolins und Naphthalins den wichtigsten Anhaltspunkt für die These¹⁾ gaben, daß diese Bicyclen nicht zum spontanen Wechsel in der Lage der Doppelbindungen befähigt seien.

β -Naphthylamin liefert beim Chinolinringschluß nach Skraup ausschließlich das angulare Benzoquinolin (II). Ist die für den angularen



- a) R = CH₃
b) R = Cl

Ringschluß verantwortliche α -Position durch Substituenten blockiert, so kann die Bildung des angularen Tricyclus durch *Substituentenabstoßung* erzwungen werden. E. Lellmann und O. Schmidt¹⁴⁾ er-

¹¹⁾ W. N. Ufimzew, B. 69, 2188 (1936); J. Obermiller, J. prakt. Chem. 126 272 (1936).

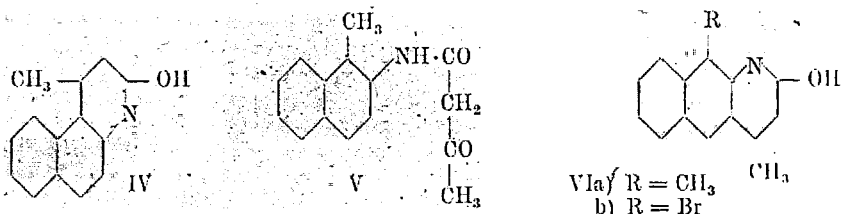
¹²⁾ R. Lesser, E. Krahnepuhl und G. Gad, B. 58, 2109 (1925); J. Obermiller, J. prakt. Chem. 126, 272 (1936); W. Schlenk, Lehrbuch, Bd. II, 732, 788, (1939).

¹³⁾ Grass. Dyestuffs Corp. N. Y., A.P. 1 593 816; C. 1926, II, 1695.

¹⁴⁾ B. 20, 3154 (1887).

hielten aus 1-Brom- und 1-Nitro-2-naphtylamin das gleiche angulare Gerüst. Bei nicht verdrängbarem Substituenten soll nach Marckwald gar keine Reaktion stattfinden. Die Prüfung im Falle des 1-Methylnaphtylamins-(2) ergab jedoch in 30 % übersteigender Ausbeute den linearen Tricyclus, das 5-Methyl-6,7-benzochinolin (IIIa); der angulare Tricyclus konnte nicht spurenweise nachgewiesen werden. Ein Analogiefall findet sich in einem I. G.-Patent¹⁵⁾, das die Überführung von 1-Chlor-naphtylamin-(2) in ein Gemisch des angularen und des chlorierten linearen Benzochinolins (IIIb) beschreibt¹⁶⁾. Der Stammkörper, das 6,7-Benzo-chinolin, wurde durch Dehydrierung des Bz-Tetrahydroderivats dargestellt¹⁷⁾, das als Hauptprodukt beim Skraup-Ringschluß aus β -Amino-tetralin entsteht.

Vom Schema des „klassischen“ angularen Ringschlusses vermag auch abzuweichen die Cyclisierung von Acetessigsäurearyliden zu 4-Methyl-carbostyrylen nach der Methode von L. Knorr¹⁸⁾. Die Bevorzugung der angularen Anellierung ist hier geringer als beim Skraup-Ringschluß. Während Acetoacet- β -naphthalid mit konz. Salzsäure quantitativ das angulare System (IV) liefert, wird bei Methylblockierung der 1-Stellung (V) unter gleichen Bedingungen lediglich der Acylrest hydrolytisch abgespalten. Kalte konz. Schwefelsäure schließt dagegen mit 70proz. Ausbeute den Ring zu 2-Oxy-4,8-dimethyl-6,7-benzo-chino-



lin (VIa). Schon das 1-Brom-2-acetoacetamino-naphthalin liefert unter diesen Bedingungen das lineare System (VIb) ohne Substituentenverdrängung, womit ein Unterschied zum Skraup-Ringschluß herausgearbeitet ist.

Zum prinzipiell gleichen Ergebnis führt die Übertragung der γ -Oxy-chinaldin-Synthese nach M. Conrad und L. Limpach¹⁹⁾ auf die β -Naphthylamin-Reihe. Die Cyclisierung des β -Naphthylamino-croton-

¹⁵⁾ DRP. 613 628; von K. Fries, A. 516, 285 (1935) als Korrekturnachtrag zitiert.

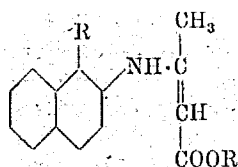
¹⁶⁾ Das hier vorliegende Ringgerüst des 1-Az-anthracens wurde inzwischen bearbeitet von Gerhardt und Hamilton, Am. 66, 479 (1944); G. R. Clemons und G. W. Driver, Soc. 1945, 829; A. Etienne, Ann. chim. (12) 1, 1356 (1947).

¹⁷⁾ J. v. Braun und H. Gruber, B. 55, 1740 (1922).

¹⁸⁾ B. 17, 543 (1884); A. 236, 70 (1886); A. 245, 358 (1888).

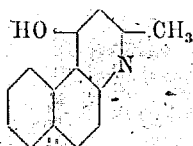
¹⁹⁾ B. 20, 944 (1887); 21, 532, 1649 (1888); 24, 2990 (1891); L. Limpach, B. 64, 969 (1931).

esters (VIIa) in Paraffinöl bei 240° liefert quantitativ den angularen Tricyclus (VIII), bei Methyl-Blockierung (VIIb) das lineare System IX;

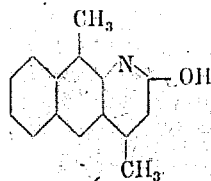


VII a) R = H

b) R = CH₃



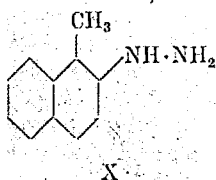
VIII



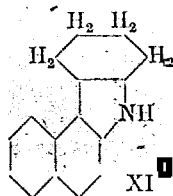
IX

die Reaktionerschwörung gibt sich in einer um 40° höheren Reaktions-temperatur sowie in einem Abfall der Ausbeute auf 70 % kund.

Die β,β -Reaktivität des Naphthalins tritt jedoch nicht bei allen Ringangliederungen zutage. Die Angliederung eines Pyrrolsystems über die α,β -Positionen des Naphthalins gelingt recht leicht mit Hilfe der Fischerschen Indolsynthese, vom β -Naphthylhydrazin ausgehend. Die Übertragung auf das blockierte Hydrazin (X) schlug zunächst fehl. Die Hydrazone mit Brenztraubensäure, α -Keto-valeriansäure und Aceton lieferten beim Cyclisierungsversuch nur Zersetzungsprodukte. Da α,β -disubstituierten Indolen eine besonders hohe Bildungstendenz zukommt, wurden die Versuche auf das *Cyclohexanon-hydrazon* ausgedehnt. Das isolierte Tetrahydro-carbazolderivat erwies sich überraschenderweise als das Ergebnis eines unter *Methyl-Absprengung* verlaufenen *angularen* Ringschlusses. Die Konstitution (XI) wurde sichergestellt durch Identifikation mit dem Produkt der Fischer-Synthese des Cyclohexanon- β -naphthyl-hydrazons. Lehrreich ist der Unterschied der Reaktionsgeschwindigkeiten beim Ringschluß mit und ohne Methylblockierung: Die mit Cyclohexanon versetzte kalte methanolische Lösung von β -Naphthylhydrazin beginnt auf Zusatz von 2n-Salzsäure hin nach wenigen Sekunden Kristalle von XI auszuscheiden, deren Menge nach einstündigem Stehen 98 % entspricht. Die Bildung des gleichen Körpers



X

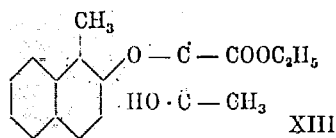
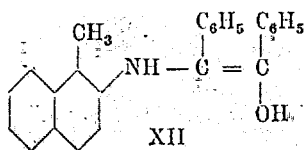


XI

unter Methylabstoßung erfolgt erst beim mehrstündigen Erhitzen des reinen Methyl-naphthyl-hydrazin-chlorhydrats mit Cyclohexanon-Eisessig auf 200° mit einer Ausbeute von maximal 7 %.

Der Mechanismus²⁰ der Fischerschen Indolsynthese kann nach Robinson²⁰) als aufgeklärt gelten im Sinne einer der Benzidinumlagerung verwandten Hydrazo-Umlagerung. Bei den bislang bekannten Typen der Hydrazo-Umlagerung²¹) beschränkt sich die Substituentenabstoßung auf Halogen, Carboxyl, Alkoxy-, Acyloxy- und Sulfonsäure-Rest. Methylblockierung führt zum Wechsel des Reaktionstyps. Das Hydrazomesitylen widersteht allen Umlagerungsversuchen²²). Die Abspaltung von aromatisch gebundenem Methyl ist, wenn man von Aluminiumchlorid-Katalyse und pyrogenen Bedingungen absieht, eine recht ungewöhnliche Reaktion. In diesem Lichte erscheint die Fischer-Synthese als eine besonders begünstigte Form der Hydrazo-Umlagerung, da kein anderer Typus zur Methylabstoßung befähigt ist.

Die linearen und angularen Tricyclen unterscheiden sich in so charakteristischer Weise, daß man über die Art der Anellierung eines Dreiringsystems nie im Zweifel sein kann. Die linearen Typen zeigen eine um mehrere Zehnerpotenzen stärkere Fluoreszenz im UV-Licht. Soweit basische Gruppen vorhanden, sind die Salze der linearen Tricyclen gelb gefärbt im Gegensatz zu den farblosen Lösungen der angularen Systeme in Säuren. In den meisten Fällen sind die linearen Tricyclen selbst schon blaßgelb. Nicht jede Ringschlußreaktion ermöglicht die experimentelle Entscheidung der Alternative: Angulare Anellierung unter Substituentenabstoßung oder lineare Angliederung. Die notwendige Verschärfung der Reaktionsbedingungen bei Blockierung läßt in vielen Fällen Neben- und Zersetzungsreaktionen zum Zug kommen. So konnte die Cyclisierung des 1-Methyl-2-desylamino-naphthalins (XII) im Sinne



der Diphenyl-indol-Synthese²³) sowie der Cumaron-Ringschluß mit der aus 1-Methyl-naphthol-(2)-natrium und Chloracetessigester bereiteten Substanz XIII nicht erfolgreich durchgeführt werden.

Die hier angegebenen, mit verschiedener Leichtigkeit über die 2,3-Stellungen des Naphthalins erfolgenden Ringschlüsse einerseits, Befunde wie die Methylabspaltung bei der Bildung des Benzindol-Systems

²⁰) G. M. Robinson und R. Robinson, Soc. 113, 639 (1918); 125, 827 (1924).

²¹) Siehe bei P. Jacobson, A. 428, 76 (1922).

²²) G. Schultz, B. 17, 477 (1884).

²³) F. R. Japp und T. S. Murray, Soc. 65, 889 (1894); C. 1899, II, 251; C. 1910, II, 221.

andererseits, lassen den Wert von Ringschlußreaktionen für die Beurteilung aromatischer Bindungsstrukturen zunächst zweifelhaft erscheinen. Ansätze zu einer systematischen Verfolgung der Anellierungsrichtung liegen bisher lediglich in den Arbeiten von K. Fries^{24a)} über „benzoide“ und „naphtoide“ Bicyclen vor. „Benzoid“ im Sinne von Fries sind Bicyclen mit oszillierenden Doppelbindungen, „naphtoid“ ist das angeblich starre Bindungssystem des Naphthalins. In der Schreibweise mit Kekulé-Strukturen enthalten die linearen Tricyclen im Gegensatz zu den angularen stets einen Ring mit einem Mindergehalt von einer Doppelbindung, einen Dihydroring. Bei blockierter α -Stellung sind nach Fries^{24c)} nur solche Ringsysteme über die 2,3-Stellungen des Naphthalins zu schlagen, die bei der Anellierung an Benzol zu benzoiden Bicyclen führen. Die Möglichkeit der linearen Anellierung eines Thiazolrings^{24b)} an das Naphthalin z. B. findet so eine Erklärung in der „benzoiden“ Natur des Benzothiazols, letztlich in der Existenz von Thiazol-dihydrid. Ringschlüsse über die β,β -Stellung „naphtoider“ Bicyclen sollen nach Fries dann versagen, wenn die Dihydroform des zu anellierenden Ringsystems nicht stabil ist, ihr mithin keine Bildungstendenz zukommt. Im Hinblick auf die leichte Bildung des linearen Naphto-triazols aus 2,3-Naphtylendiamin — Dihydro-triazol existiert nicht, Benzotriazol ist streng „naphtoid“ — muß Fries zugeben, daß „Behinderungen dieser Art nicht immer in ohne weiteres erkennbarer Weise eintreten“. Die Unzulänglichkeit dieser Deutung tritt bei den neuen Anellierungen besonders klar zutage. Die Skraup-Synthese über die 2,3-Stellung des Naphthalins gelingt, obwohl Pyridin-dihydrid unbekannt²⁵⁾, Chinolin ein ausgesprochen naphtoides System ist. Gegen die lineare Angliederung des Pyrrolringes sträubt sich dagegen der Naphthalinkern trotz der benzoiden Natur des Indols und der Stabilität des Pyrrolins.

Zum Verständnis der Tatsachenkomplexes muß man von dem statischen Modell einer eingefrorenen Kekulé-Struktur abrücken und sich einer dynamischen Betrachtungsweise des Bindungszustandes auf quantenmechanischer Grundlage befleißigen. Wie im folgenden gezeigt wird, ist auf der Grundlage neuer Vorstellungen über die Reaktionsweise der Bicyclen nicht nur Verständnis für die scheinbar so divergierenden Resultate der Anellierungen zu gewinnen, sondern darüber hinaus erweisen sich die Ringschlußreaktionen als wertvolles Hilfsmittel bei der *Feinstruktur-Analyse* der Bicyclen, bei der Erfassung fein abgestufter Reaktivitätsunterschiede.

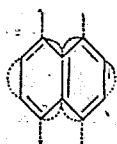
^{24a)} A. 389, 305 (1912); 404, 50 (1914); b) A. 454, 121 (1927);

c) mit R. Walter und K. Schilling, A. 516, 248 (1935); d) A. 527, 38 (1937).

²⁵⁾ Nur Dihydropyridin-polycarbonsäuren sind beschrieben. Die Erfahrungen der Benzolreihe zeigen, daß Häufung von Carboxylgruppen stabilisierend auf die Dihydroform wirkt.

III. Struktur und Reaktionsweise des Naphthalinkerns

Als letzter Versuch, Zustand und Reaktivität des aromatischen Kerns mit einer einzigen Formel wiederzugeben, kann der von J. Thiele gelten²⁶⁾. Aber auch nach der Partialvalenzhypothese muß schon der 1,2- oder 1,4-Addition an das Benzol eine Sprengung des fließenden Doppelbindungssystems vorausgehen. Die Thielesche Benzolformel mit der Gleichheit aller CC-Bindungen ist gewissermaßen das empirische Symbol, das von der modernen Quantenmechanik seinen physikalischen Inhalt erhielt und auch heute noch die beste Formulierung des aromatischen Grundzustandes darstellt. Weniger befriedigend ist die Formulierung des Naphthalins: Thiele gibt die Formel XIV, ob-



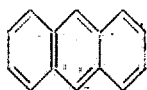
XIV



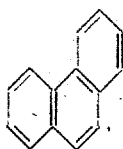
XV

wohl die unsymmetrische Struktur XV einen besseren Ausgleich der Restvalenzen verbürgen würde, mithin energieärmer und stabiler sein sollte.

Nicht minder unzulänglich waren die Bemühungen, einen Schlüssel zum Verständnis der kondensierten aromatischen Systeme zu finden in dem Gehalt der Doppelbindungsstrukturen an „echten“ Benzolkernen²¹⁾. Rein qualitativ läßt sich zwar die größere Reaktivität und der höhere Energieinhalt des Anthracens (XVI) gegenüber dem Phenanthren (XVII) mit dem Gehalt an einem „unechten“ Kern in Zusammenhang bringen. Bei der exakten Prüfung versagt jedoch diese Anschau-



XVI



XVII

ung. Auch ein Oszillieren der Doppelbindungen im mittleren Kern des Anthracens vermag weder die 9,10-Reaktivität noch die gegenüber dem Phenanthren um nur 7 kcal höhere Bildungsenthalpie²⁷⁾ zu erklären, abgesehen davon, daß sich das Oszillationsprinzip durch physikochem. Befunde nicht stützen ließ:

Bei der Gewinnung eines treffenden Formelausdrucks weicht der Weg des Chemikers, dessen Formelbilder Spiegel und Deutung der Re-

²⁶⁾ A. 306, 87 (1899); 311, 248 (1900); 319, 134 (1901).

²⁷⁾ Exakte Messungen der Verbrennungswärmen bei K. Fries, R. Walter und K. Schilling, A. 516, 248 (1935).

aktivität sein sollen, von dem des Physikers zwangsläufig ab. Während die chemische Reaktivität das Bindungsspiel der Molekel im Anregungszustand, bzw. den Anregungszuständen, wiedergibt, erfassen physikochemische Messungen, soweit sie eine Mittelung über die Werte aller Moleküle darstellen, stets den mengenmäßig weit vorherrschenden Grundzustand. Die theoretische Deutung von Grund- und Anregungszustand gelingt weitgehend mit Hilfe der Mesomerievorstellung auf wellenmechanischer Grundlage²⁸⁾.

a) Der Grundzustand

Der Grundzustand ist gekennzeichnet durch die Überlagerung der Wellenfunktionen der sog. kanonischen Strukturen. Als solche pflegt man die bekannten Doppelbindungsstrukturen nach Kekulé und Dewar zu wählen. Diese durch die Termini „Resonanz“ oder „Mesomerie“ bezeichnete Überlagerung, für die die Wechselwirkung der Elektronen zweiter Art maßgebend ist, führt zu einem echten Zwischenzustand mit gleichmäßiger Verteilung der Elektronendichte über die 6 Bindungen des Benzols. Einen experimentellen Beweis für die zwischen Einfach- und Doppelbindung liegende Natur der aromatischen Bindung liefert die elektronen-interferometrische Molekülvermessung²⁹⁾. Die Überlagerung der Strukturen ist mit einem Energieabfall verbunden. Unter der Resonanz- oder Mesomerieenergie wird der Energiebetrag verstanden, um den das mesomere System ärmer ist als ein System gleicher Zahl isolierter Doppelbindungen. Ihren Zahlenwert ermittelt man aus der Hydrierungswärme, die um den Wert der Resonanzenergie vermindert erscheint gegenüber der Wärmetönung der Hydrierung des isolierten Doppelbindungssystems.

Die quantenmechanische Näherungsrechnung des Benzolmoleküls sieht keine gleiche Beteiligung der Kekulé- und Dewar-Strukturen an der Überlagerung vor. 80 % der Resonanzenergie sollen auf Kosten der beiden Kekuléstrukturen gehen. Der Berechnung des Naphthalinmoleküls legen L. Pauling und G. W. Wheland³⁰⁾ eine 68proz. Beteiligung der drei Kekuléstrukturen (XVIII—XX) zugrunde. Wie



XVIII



XIX



XX

schon ein Blick auf diese drei wichtigsten Strukturen zeigt, werden im Überlagerungszustand die α,β -Bindungen eine höhere Elektronendichte, d. h. eine etwas geringere Bindungslänge aufweisen als die β,β -Bindungen. Die Ergebnisse der verschiedenen Rechenverfahren

²⁸⁾ Von den beiden Näherungsverfahren, der von L. Pauling und seiner Schule benutzten „Elektronenpaarmethode“ und dem Molekularschalenverfahren E. Hückels entfernt sich das erstere in seinem Formalismus weniger stark von den gewohnten strukturellen Vorstellungen; dieses sei daher als Basis gewählt.

²⁹⁾ L. Pauling und L. O. Brockway, J. chem. Physics 2, 867 (1934); V. Schomaker und L. Pauling, Am. 61, 1769 (1939).

nach L. Pauling³⁰⁾, J. Sherman³¹⁾ und W. G. Penney³²⁾ weichen etwas voneinander ab, sehen für die α,β - und β,β -Bindung des Naphthalins Unterschiede von 0,02—0,04 Å voraus.

Die Röntgen-Strukturanalyse des Naphthalins von J. M. Robertson³³⁾ ergab bei durchschnittlicher Bindungslänge von 1,41 Å geringe Verschiedenheiten der Bindungen in der angedeuteten Richtung. Die Messungen sind jedoch nach Robertsons eigenem Urteil noch nicht genügend exakt, um zu einer Bestätigung oder Ablehnung der berechneten Modelle zu führen. Die bisher von den meisten chemischen Bearbeitern geforderte *eingefrorene* Kekulé-Struktur in der symmetrischen Anordnung nach Erlenmeyer kann jedoch für den Grundzustand *nicht* in Betracht kommen; sie würde Unterschiede der Bindungslängen von 0,20 Å fordern.

Für die hohe Symmetrie des Grundzustandes sprechen auch die Ergebnisse der Langwellen-Spektroskopie. Nach K. W. F. Kohlrausch³⁴⁾ zeigen die linienarmen Ultrarot- und Ramanspektren des Naphthalins keine übereinstimmenden Frequenzen, der schärfste, überhaupt mögliche Nachweis für ein Symmetriezentrum im Molekül.

b) Die reaktiven Anregungszustände

Ungleich schwieriger als die Erfassung des stationären Zustandes erweist sich im Rahmen der physikalischen Theorie die Deutung des reaktiven Verhaltens. Den wenigen quantentheoretischen Ansätzen kann schon deshalb kein voller Erfolg beschieden sein, weil die Vorstellungen zum Mechanismus der aromatischen Substitution nicht einheitlich und klar sind.

Gegenüber der Auffassung einer unmittelbaren Substitution soll hier einem *zweistufigen Mechanismus* der Vorzug gegeben werden, da die Reaktivität der hier diskutierten kondensierten Systeme einen solchen fordert. Es sei dahingestellt, ob es sich bei dem Primärvorgang um eine mit Hauptvalenzen zu beschreibende Addition im Sinne des Thiele-Wieland-Mechanismus³⁵⁾ oder um eine unpaare Anlagerung handelt, wie sie von Pfeiffer und Wizinger³⁶⁾ über die Ionenstufe, von Ch. Price³⁷⁾ über das kurzlebige Radikal formuliert wird. Von den beiden Einzelvorgängen, Addition und Abspaltung ist bei kondensierten Systemen der zweite gegenüber dem Benzol verlangsamt infolge der gerin-

³⁰⁾ J. chem. Phys. 1, 362 (1933).

³¹⁾ J. chem. Phys. 2, 488 (1934).

³²⁾ Proc. Roy. Soc. A 158, 306 (1937).

³³⁾ Proc. Roy. Soc. A 142, 674 (1933); Soc. 1938, 131; s. a. L. O. Brockway, Ann. Rep. 1937, 301.

³⁴⁾ B. 68, 893 (1935); s. a. G. Bonino, B. 71 A, 129 (1938).

³⁵⁾ J. Thiele, A. 306, 87 (1899); H. Wieland und E. Sakellarios, B. 53, 202 (1920); H. Wieland und F. Rahn, B. 54, 1720 (1921); H. Wieland und L. Bettag, B. 55, 2246 (1922).

³⁶⁾ A. 461, 132 (1928); P. Pfeiffer und P. Schneider, J. prakt. Chem. 129, 129 (1931).

³⁷⁾ Am. 58, 1834, 2101 (1936).

geren Tendenz zur Ausbildung des aromatischen Systems. Bei Anthracen und Phenanthren sind Additionsprodukte isolierbar, die entweder als Primärstufe³⁵⁾ oder als Ergebnis einer Konkurrenzreaktion³⁷⁾ gedeutet werden können.

Schon beim Naphthalin konnten in einigen Fällen sehr labile Addukte gefaßt werden: Ein Naphthalin-dichlorid³⁸⁾, das Salpetersäure-Addukt³⁹⁾ und das Produkt der Addition von unterchloriger Säure⁴⁰⁾.

Die Substitutionsreaktionen aromatischer Polycyclen fordern also die Ausbildung einer Reaktionsformel mit *olefinischer Additionsfähigkeit*. Auch die zum Nachweis von Bindungsfixierungen so häufig benutzte Aktivierung von Halogen, Methyl usf. durch o- oder p-ständige Substituenten zweiter Ordnung sowie die bei Ringschluß-Reaktionen bedeutsame Aktivierung von Kernwasserstoff durch o,p-Substituenten erster Ordnung dürfte sich über eine olefinische Anregungsstufe vollziehen. Das „Leitvermögen“ des aromatischen Kerns gegenüber Substituenteneinflüssen, für das A. Angeli⁴¹⁾ ein umfangreiches Material zusammenstellte, ist lediglich ein Spezialfall der „Leitung“ durch ungesättigte Systeme, für die R. C. Fuson⁴²⁾ das sogenannte *Vinylogieprinzip* entwickelte. Es erscheint somit berechtigt, den Gesamtkomplex der aromatischen Reaktivität, zumindest für kondensierte Systeme, auf die Reaktionsfähigkeit primär gebildeter olefinischer Anregungsstufen zurückzuführen.

Der Übergang des Grundzustandes in den reaktionsbereiten Zustand bedarf der Zufuhr der Anregungsenergie. Das Wesen des Anregungsvorganges sieht die physikalische Theorie in einer Entkoppelung der am Grundzustand beteiligten Strukturen²⁸⁾, in einer Verschiebung zugunsten einer Grenzformel der Mesomerie, wobei die Entkoppelung der Energiezufuhr adäquat ist. Als für die Reaktivität verantwortliche Anregungszustände gelten nicht nur die Grenzformeln, sondern alle Strukturen, bei denen die Beteiligung einer Grenzformel gegenüber dem Wert bei maximaler Resonanz erhöht ist. Es entsprechen also einer Grenzstruktur eine große Zahl von angeregten Zuständen, die sich durch ihr Energieniveau, bzw. den Ausbildungsgrad der Grenzformel unterscheiden. Bei der normalen thermischen Molekülanregung kommt es nicht zur Ausbildung der reinen kanonischen Strukturen, wie schon die kinetisch bestimmten Aktivierungswärmen zeigen, die meist erheblich hinter dem Wert der Resonanzenergie zurückbleiben. Diese Reinstrukturen sind ja auch in Existenz und Energieinhalt fiktiv, wie E. Hückel⁴³⁾ betont, da eine echte triolefinische Grenzform ohne Wechsel-

³⁵⁾ Leeds und Everhart, Am. 2, 208 (1880); E. Fischer, B. 11, 735, 1411 (1878).

³⁸⁾ G. Oddo, Gazz. 55, 174 (1925).

⁴⁰⁾ Neuhoff, A. 136, 342 (1865).

⁴¹⁾ Sammlung Ahrens 28, 1 (1926).

⁴²⁾ Chem. Rev. 16, 1 (1935).

⁴³⁾ Z. El. Ch. 43, 752 (1937).

wirkung der Elektronen zweiter Art nicht denkbar ist. Über die kanonischen Strukturen hinaus sieht das wellenmechanische Näherungsverfahren noch sogenannte „angeregte Strukturen“ vor, Strukturen mit einem oder mehreren entkoppelten Elektronenpaaren sowie polare Strukturen. Die angeregten Strukturen dieses Typus lassen sich formell von den reinen kanonischen Strukturen ableiten.

Der Formalismus der Näherungsverfahren dürfte einige Freiheit bieten bei der Auswahl der für die Berechnung des aromatischen Zustandes notwendigen kanonischen Strukturen. Gegen die Verwendung aller dieser kanonischer und der davon abgeleiteten „angeregten“ Strukturen als Reaktionsformeln muß der Chemiker ein entschiedenes Veto einlegen. Während die Reaktivität der Aromaten beim Übergang von Benzol zu den kondensierten Systemen zunehmend einfacher und durchsichtiger wird, wächst die Zahl der kanonischen Strukturen außerordentlich. Bei der Berechnung des Naphthalins nach dem ersten Näherungsverfahren berücksichtigen Pauling und Wheland³⁰⁾ neben den drei Kekulé-Strukturen noch 39 weitere kanonische Strukturen mit 1, 2 oder 3 Parabindungen. Polare Strukturen und solche mit parallelen Elektronenspins sind dabei noch nicht einbegriffen. Für das Tribiphenylmethyl sieht der wellenmechanische Ansatz gar 496 kanonische Strukturen vor!

Der Ruf nach einer Begrenzung der als vernünftig zu erachtenden Mesomeriemöglichkeiten wurde mehrfach im Lager der Physiker⁴⁴⁾, noch häufiger unter den Chemikern laut. Diese Einschränkungen müssen von Seiten der Experimentalchemie erfolgen.

Zur Deutung der speziellen 1,2- und 1,4-Reaktivität des Naphthalins und der erschwerten 2,3-Reaktionsweise sowie des unterschiedlichen Verhaltens der „benzoiden“ und „naphthoiden“ Bicyclen (nach Fries) bedarf es bestimmter Festsetzungen bezüglich der möglichen Reaktionsformeln. Ohne einer physikalischen Behandlung vorzugreifen, sei gezeigt, daß mit einer beschränkten Anzahl reaktiver Strukturen die empirischen Befunde gedeutet werden können. Als Grundlage benötigt werden lediglich die drei Kekulé-Strukturen XVIII—XX. Beim Naphthalin selbst sind die beiden unsymmetrischen Strukturen natürlich identisch, werden bei Substitution jedoch verschieden.

Die Analogie der aromatischen mit der olefinischen Anregung rechtfertigt folgende formelle Zerlegung des Anregungsvorganges in drei Stufen:

1. Förderung einer kanonischen Struktur in der prozentualen Beteiligung am Grundzustand durch Energiezufuhr;

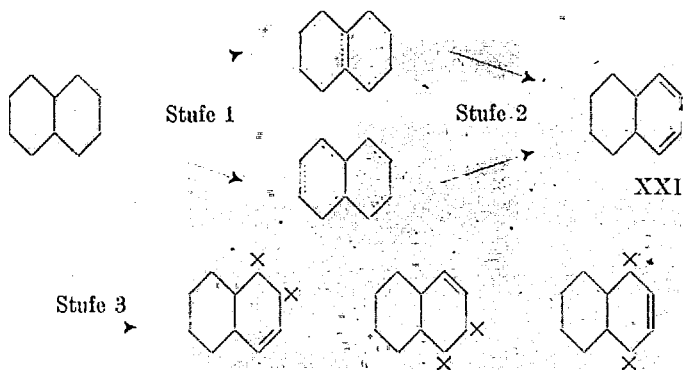
⁴⁴⁾ Vgl. L. E. Sutton, Soc. 1940, 548: „The great danger of the idea of resonance is that, because it is so adaptable, it can be made to explain almost any peculiarity of any particular compound if licence to postulate suitable component structures be granted.“

2. Unsymmetrische Verteilung der aufgenommenen Energie, wobei ein Teil des Systems die optimale Resonanz wiedererlangt, während sich im anderen Teil unter Fortschreiten des Entkoppelungsprozesses die aromatische Natur weiter verringert unter Annäherung an olefinischen Charakter;

3. Anregung des olefinischen Systems zur Reaktionsformel.

Bei kondensierten Systemen vollzieht sich die zum Reaktionserfolg führende Anregung natürlich nur an *einem* Kern, während die anderen Ringe im Resonanzzustand verharren. Schon die energetischen Verhältnisse beweisen das, andernfalls die Reaktivität der Polycyclen mit steigender Kernzahl abnehmen müßte. Nach der Verschiebung des mesomeren Grundzustandes in Richtung auf eine der Grenzformeln hin muß also auf Stufe 2 eine Art energetischer Disproportionierung erfolgen. Die Stufen 1 und 2 seien *aromatische Anregung* genannt. Die *olefinische Anregung* der Stufe 3, bei der evtl. der polarisierende Einfluß des Reaktionspartners zur Geltung kommt, führt zu den bekannten polaren und unpolaren Anregungsstrukturen des Doppelbindungssystems.

Im Falle des Naphthalins erhält man als Ergebnis der aromatischen Anregung zwei Typen recht verschiedenen Energieinhalts. Für die *energetisch bevorzugte* Anregung ergibt sich folgendes Bild⁴⁵⁾:

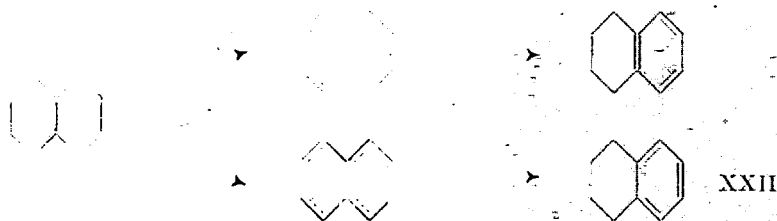


Die Stufe 2 zeigt, daß sowohl die symmetrische als auch die unsymmetrische kanonische Struktur zur Ausbildung des gleichen relativ energiearmen, daher wichtigsten Anregungszustandes (XXI) führt. Von dieser gemeinsamen Form der aromatischen Anregung führt dann die Stufe 3

⁴⁵⁾ Mit dem strukturlosen Kern ist der Grundzustand, in der Doppelbindungsschreibweise die Annäherung an den olefinischen Charakter wiedergegeben. Die als Kreuzchen gezeichneten Einzelelektronen symbolisieren den olefinischen Anregungszustand.

unter Fortsetzung der energetischen Disproportionierung oder durch weitere Energieaufnahme zu den für 1,2- und 1,4-Reaktivität verantwortlichen Strukturen. Der Einfachheit halber sind nur die unpolaren Strukturen eingezeichnet. Die Übereinstimmung der dritten Reaktionsformel mit der Naphthalinstruktur nach Thiele (XIV) soll nicht unerwähnt bleiben.

Der zweite Typ der Naphthalin-Anregung bedarf bei graduell gleichem Ausbildungsgrad der angeregten Struktur einer wesentlich höheren Energiezufuhr. Bei ihr vollzieht sich die unsymmetrische Energieverteilung auf Stufe 2 in weniger ausgeprägtem Maß, derart, daß lediglich ein Cyclohexadien-System den optimalen Resonanzzustand bewahrt:



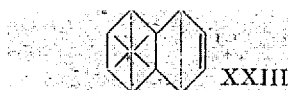
Die olefinische Anregung der Stufe 3 führt wieder von der Doppelbindungs-Struktur zur Reaktionsformel. Hier liefern die beiden Kekulé-Strukturen bei der aromatischen Anregung energetisch gleichwertige, aber strukturell verschiedene Annäherungen an die triolefinische Grenzformel. Während die angeregte Erlenmeyer-Struktur wieder nur zu 1,2- und 1,4-Reaktivität führt, ist dieser Anregungstyp der unsymmetrischen Struktur der einzige (XXII), der eine 2,3-Reaktivität, eine echte o-Beziehung zwischen den benachbarten β -Stellungen ermöglicht.

Der Energieunterschied zwischen den Grenzstrukturen der „aromatischen Anregung“ in den beiden Anregungsschemata, von denen das erste das *butadienoide*, das zweite das *benzoide*⁴⁶⁾ genannt seien, läßt sich unschwer ermitteln, wenn man die Resonanzenergie des Naphthalins kennt.

Im Vergleich mit dem Benzol zeigt das Naphthalin eine *gesteigerte* Reaktivität sowie das Bestreben, bei Additionsreaktionen, besonders klar beim stufenweisen Verlauf der Hydrierung, das stabilere Benzol-system auszubilden. Diese experimentellen Befunde verleiteten früher zu dem irrtümlichen Schluß, dem Naphthalin müsse eine unsymmetrische Struktur zugrunde liegen, wie die Beispiele der halbzentrischen

⁴⁶⁾ „Benzoid“ betont die im triolefinischen System liegende Analogie zur Benzolanregung.

Formel (XXIII) nach Wreden und Claus⁴⁷⁾ und der von Willstätter⁴⁸⁾ zeitweise diskutierten halbolefinischen Struktur (XXIV)



XXIII



XXIV

zeigen. Die Deutung dürfte in einer geringeren Ausprägung des aromatischen Charakters im Naphthalin, in einer geringeren Tiefe der auf den Einzelkern bezogenen Mulde der Mesomerieenergie liegen.

Die quantenmechanischen Näherungsverfahren ergeben für die Resonanzenergie des Naphthalins nicht den doppelten Benzolwert, sondern zeigen einen mehr oder weniger großen Abfall⁴⁹⁾. Die zur Ermittlung der Resonanzenergie geeignete Hydrierungswärme ist für das Naphthalin noch nicht direkt gemessen worden. Man ist daher auf die Differenzen der im Vergleich sehr hohen Verbrennungswärmen angewiesen, für die nur selten Messungen der erforderlichen Genauigkeit vorliegen⁵⁰⁾. L. Pauling und J. Sherman⁵¹⁾ entnehmen aus Verbrennungswärmen einen Wert für die Naphthalin-Resonanzenergie, der nach der Division durch die Ringzahl 2 von dem des Benzols kaum abweicht. Eine im Anhang durchgeführte Neuberechnung auf Grund einer neuen Tabelle der Verbrennungsenthalpien (W. A. Roth) ergibt auf zwei unabhängigen Wegen, aus der partiellen Hydrierung zum Tetralin sowie aus der Totalhydrierung zum Dekalin, Werte von 63,5 und 62,9 kcal, also rund 63 kcal. Mit 31,5 kcal pro Kern liegt eine beträchtliche Verminderung gegenüber der von Kistiakowsky⁵²⁾ zu 36 kcal sehr genau ermittelten Resonanzenergie des Benzols vor.

Die butadienoide Anregungsstruktur (XXI) weist noch die Benzol-, richtiger die o-Xylol-Resonanz auf, die nach den Kistiakowskyschen Daten 35 kcal beträgt. Zur Bildung ihrer fiktiven Grenzform bedarf es daher eines Energieaufwandes von $63 - 35 = 28$ kcal. Bei der benzoiden Anregung zu XXII bleibt von der Resonanzenergie des Naphthalins nur noch die des Cyclohexadien-Systems erhalten, die nur 1,8 kcal⁵²⁾ beträgt. Die Grenzformel (XXII) liegt also um 61 kcal über dem Energieniveau des Grundzustandes. Ob man mit der ver-

⁴⁷⁾ B. 9, 570 (1876).

⁴⁸⁾ R. Willstätter 1911. Siehe B. 45, 1471 (1912).

⁴⁹⁾ Verhältnis der Resonanzenergien Benzol:Naphthalin

1:1,9 nach L. Pauling und G. Wheland, siehe Fußnote 30;

1:1,8 nach J. Sherman, siehe Fußnote 31;

1:1,8 nach E. Hückel, Z. Physik 76, 628 (1932);

1:1,75 nach J. E. Lennard-Jones und Turkevich, Proc. Roy. Soc. A 158, 297 (1937).

⁵⁰⁾ Vgl. W. A. Roth, Z. El.Chem. 45, 341 (1939).

⁵¹⁾ J. chem. Ph. 1, 606, 679, 682 (1933).

⁵²⁾ G. B. Kistiakowsky, J. H. Ruhoff, H. A. Smith und W. E. Vaughan, Am. 58, 135, 146 (1936); 59, 831 (1937).

bleibenden Resonanz des Dien-Systems oder sofort mit einer in der Grenzstruktur 63 kcal erfordernden Totalanregung der Naphthalinmolekel rechnet, ist für die weiteren Ausführungen bedeutungslos. Der

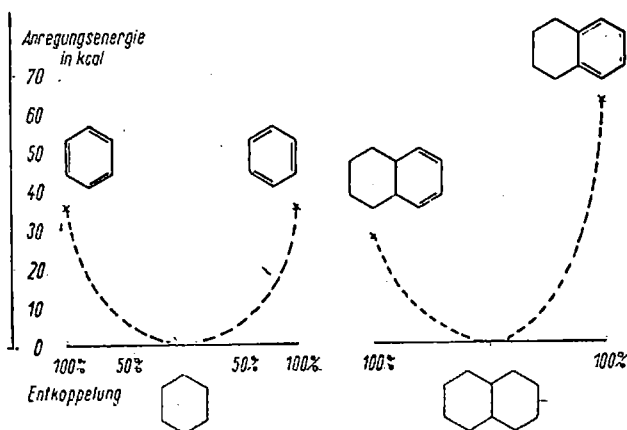


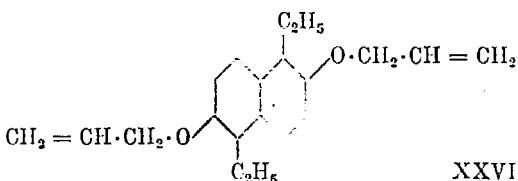
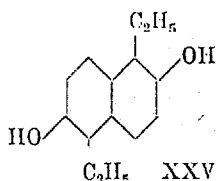
Fig. 1

auf der Fig. 1 deutlich zum Ausdruck kommende große Energieunterschied der beiden Anregungstypen läßt die *außerordentliche Bevorzugung* der 1,2- und 1,4-Reaktivität verständlich erscheinen. Der Vergleich mit der Benzolanregung zeigt, daß die Anregung des Naphthalins nach dem butadienoiden Schema leichter erfolgt als die des Benzols, die Grenzstruktur der benzoiden Naphthalinanregung dagegen auf einem Energieniveau liegt, das unter normalen Temperaturbedingungen nie erreicht werden kann. Der Übergang des Grundzustandes in zwei bindungstautomere, mit Doppelbindungsstrukturen wiederzugebende Formen verschiedenen Energieniveaus würde völlig im Rahmen der klassischen Strukturlehre liegen, abgesehen vielleicht von den Schwierigkeiten der Formulierung des Grundzustandes. Erst der durch die ausgezogene Kurve im Diagramm symbolisierte successive Übergang⁵³⁾ in diese Grenzstrukturen, in der Sprache der Wellenmechanik die zunehmende Entkoppelung der an der Resonanz beteiligten Wellenfunktionen, stellt erst den Verstoß gegen die klassischen Prinzipien dar. Dieser Verstoß ermöglicht allerdings erst die Deutung der 2,3-Reaktivität des Naphthalins.

Die bevorzugte 1,2- und 1,4-Reaktionsweise des Naphthalins pflegte früher zur Annahme der fixierten symmetrischen Struktur nach Erlenmeyer zu verleiten. Die stärkste Stütze erfuhr diese Ansicht

⁵³⁾ Eine evtl. Quantelung ist nicht berücksichtigt.

durch die vielerörterte Arbeit von L. F. Fieser und W. C. Lothrop⁵⁴⁾, die scheinbar jede unsymmetrische Formel ausschaltet. 2,6-Dioxy-1,5-diäthyl-naphthalin (XXV) kuppelt nicht mit Diazoverbindungen. Der



Diallyl-äther XXVI zeigt keine Tendenz zur Claisen-Umlagerung. Dieser Schluß auf eine der Reaktionsformel zugrunde liegende symmetrische Struktur erweist sich jetzt als Fehlschluß. Selbst die Fieser'schen Befunde sagen über die Symmetrie der Naphthalinstruktur nichts aus, da sich die Anregung zur Reaktionsformel nie in beiden Kernen gleichzeitig, sondern stets zeitlich nacheinander vollzieht. Sowohl von der symmetrischen wie auch der unsymmetrischen kanonischen Struktur führt die energetisch bevorzugte butadienoide Anregung zu ausschließlicher 1,2- und 1,4-Reaktivität, wie oben gezeigt. Nicht einmal eine Bevorzugung der Erlenmeyer-Struktur im Grundzustand ist aus der Reaktivität, d. h. aus den Anregungszuständen, irgendwie zu entnehmen.

Eine solche Bevorzugung ist auch aus zwei Gründen sehr unwahrscheinlich. Einmal kommt allen fiktiven, pentaolefinischen Grenzstrukturen der gleiche Energieinhalt zu, zum andern sprechen die fast gleichen Bindungslängen scharf gegen ein Überwiegen der symmetrischen Struktur.

Das gänzliche Fehlen von 2,3-Beziehung bei Reaktionen, die eine relativ starke Ausbildung eines leitenden Doppelbindungssystems erfordern — hierher gehören Kupplung mit Diazoverbindungen, Auflockerung von Halogen und Methyl durch Nitrogruppe, Oxydation zu o-Chinonen usw. — zeigt, daß die Aktivierungsenergie normaler Lösungsreaktionen eine benzoide Anregung in der notwendigen Intensität nicht zu bestreiten vermag. Lediglich bei Reaktionen, die „überraschend leicht“ vor sich gehen, also nur eines recht geringen Ausbildungsgrades der Anregungsstruktur bedürfen, wird bei Blockierung der 1,2-Reaktion die 2,3-Reaktivität beobachtbar. Solche besonders leicht verlaufenden Reaktionen liegen vor allem in Ringschlußreaktionen vor.

Eine genügend starke Ausbildung der benzoiden Anregungsstruktur wird man wohl nur erwarten dürfen bei extremer Energiezufuhr oder bei Verminderung der Naphthalinresonanz durch geeignete Substitution. Der erste Fall findet sich bei Pyro-Reaktionen verwirklicht,

⁵⁴⁾ Am. 57, 1459 (1935).

wo eine Bevorzugung der 1,2- oder 2,3-Anregung nicht mehr zu beobachten ist. Als Beispiel für die zweite Möglichkeit kann die Carboxylierung des β -Naphthol-natriums angeführt werden. Die Einführung der Oxy-Gruppe ist mit einem Abfall an Benzolresonanz verbunden, wie schon die Diskussion einer tautomeren Ketonformel zeigt. Oberhalb 200° dissoziiert das Salz der primär gebildeten 2-Oxy-1-naphtoesäure in die Komponenten, worauf Fixierung des Carboxyls in 3 erfolgt. Wenn das Naphtol-carbonat tatsächlich Zwischenstufe ist, würde der Substitution in 3 auch noch die Förderung der Ringschlußreaktion zugute kommen.

Es dürfte von einigem Interesse sein, den Bedarf verschiedener Reaktionen an Ausbildungsgrad der angeregten Struktur vergleichend zu messen, d. h. das für die Reaktion erforderliche Mindestmaß an Doppelbindungscharakter zwischen den reagierenden Gruppen zu ermitteln. Die aus der Kinetik erhaltene Aktivierungsenergie läßt keinen Schluß in der gewünschten Richtung zu, da sich diese Energie auf die beiden Stufen der aromatischen und-olefinischen Anregung verteilt und die Anregung des Reaktionspartners mit in diese Größe eingeht. Eine Abschätzung der Anregungsenergie ist jedoch möglich mit der präparativen Methodik. Der Vergleich der 1,2- und 2,3-Reaktivität bei fein abgestuften Reaktionen, vor allem Anellierungen, wird so zum Schlüssel für die Energetik des Anregungsvorganges.

IV. Anellierung und Anregungsstrukturen in der Naphthalinreihe

a) Ringangliederung an aromatische Systeme

Ringschlußreaktionen verdanken die besondere Leichtigkeit, mit der sie erfolgen, im wesentlichen zwei Faktoren:

1. der allgemeinen Ringbildungstendenz, die weitgehend auf die Reaktionserleichterung räumlich benachbarter Gruppen zurückzuführen ist;
2. der Resonanzenergie des entstehenden Ringes, falls dieser aromatisch ist.

Beide Faktoren beeinflussen das Gleichgewicht der intramolekularen, zum Ring führenden Reaktion in durchsichtiger Weise. Die Gleichgewichtskonstante, deren Größe ein Maß für die Stabilität des Ringes ist, ergibt sich wie üblich als Verhältnis von Ringbildungs- und Ringspaltungsgeschwindigkeit. Die räumliche Nachbarschaft der Gruppen wirkt sich in einer kräftigen Erhöhung der Bildungsgeschwindigkeit aus, wofür die Lacton- und Lactambildungstendenz ein Beispiel ist. Die Ringbildungstendenz ist mit der räumlichen Nähe der reagierenden Gruppen nicht erschöpfend charakterisiert. Die räumliche Nachbarschaft dürfte sich nur in einer Vergrößerung der Zahl der erfolgreichen Stöße, mithin nur im Wert der Aktionskonstanten der Arrheniusgleichung auswirken. Zusätzlich dürfte auch noch eine erhebliche Herabsetzung der Aktivierungsenergie vorliegen. Zwar gelang es nicht, vergleichbare Daten über die Temperaturabhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von inter- und intramolekularen Reaktionen zu

finden, die von W. Hückel⁵⁵⁾ zitierten Fälle zeigen jedoch überraschend hohe Änderungen der Aktivierungswärme bei Lactonringschlüssen in Abhängigkeit von der Konstitution.

Der zweite Faktor, den man, zwar nicht ganz korrekt, als Aromatisierungstendenz bezeichnen kann, sollte die Ringbildungsgeschwindigkeit kaum beeinflussen, da für diese nur der bei der Aktivierung zu überwindende Energieberg, nicht das tiefe Energieniveau der Reaktionsprodukte maßgebend ist. Die Aromatisierung wirkt sich in einer Schwächung bzw. völligen Ausschaltung der Ringöffnungsreaktion, mithin also in einer Stabilisierung des Ringes aus.

Anellierungen an ein aromatisches System unterscheiden sich häufig von einfachen Ringbildungen durch die charakteristische Art der Mitwirkung des vorhandenen aromatischen Kerns. Die am Ringschluß beteiligten Gruppen erlangen die erforderliche Reaktionsbereitschaft meist erst unter dem aktivierenden, durch Doppelbindungssystem übertragenen Einfluß von Kernsubstituenten. Ein sehr häufiger Spezialfall liegt dann vor, wenn der auflockernde o-Substituent gleichzeitig die zweite am Ringschluß beteiligte Gruppe ist.

Bei Anellierungen, die von einer Seitenkette ihren Ausgang nehmen und unter Einbeziehung eines o-ständigen Kern-Wasserstoffatoms erfolgen, ist die Ortho-Aktivierung wohl stets unerläßliche Bedingung. Eine Amino-Gruppe oder ein Phenolhydroxyl verleihen dem o-ständigen Kernwasserstoff die Fähigkeit zur Addition an die Carbonylgruppe, an Kohlenstoff-Stickstoff-Mehrfachbindungen, an Enolsysteme u. dgl., wie auch zahllose intermolekulare Reaktionen zeigen. Für diese Aktivierung ist, wie oben ausgeführt (S. 111), der Leitungseffekt durch das bei der Molekülanregung gebildete Doppelbindungssystem verantwortlich. Der Ring kann also in allen solchen Fällen nur „über“ eine Doppelbindung geschlagen werden.

Bei dieser Ortho-Aktivierung dürfte es sich in den meisten Fällen nicht um eine wirkliche Wasserstoffaktivierung handeln, sondern um eine elektromere Verschiebung, um die Bereitschaft der o-Stellung zur anionoiden Reaktivität unter Abstoßung des Wasserstoffs als Proton. Da sich ein polarer Anregungszustand stets von einer der Doppelbindungsstrukturen ableitet, ist Voraussetzung für die elektromere Verschiebung das bei der Molekülanregung gebildete Doppelbindungssystem. Die Elektronenschreibweise bietet somit keinen neuen Gesichtspunkt; im folgenden wird ihr daher die kürzere Bindestrich-Formulierung vorgezogen.

Das Maß der erforderlichen o-Aktivierung wechselt von Reaktion zu Reaktion sehr stark. Je geringer der Bedarf einer Reaktion an o-Aktivierung, einer um so weniger vollständigen Anregung, d. h. Annäherung an den olefinischen Charakter, bedarf es. Der Verlauf von

⁵⁵⁾ „Ringbildung und Ringöffnung“, Theor. Grundl. d. org. Chem. II, 501.

Ringangliederungen an Bicyclen des Naphthalintyps, bei denen große Unterschiede der 1,2- und 2,3-Reaktivität bestehen, liefert bei systematischer Untersuchung eine Möglichkeit, den Bedarf von Ringschlußreaktionen an Ortho-Aktivierung vergleichend zu ermitteln. Dieses Vorgehen würde einer *constructio ad hoc* gleichkommen, würden die so gewonnenen Resultate nicht in ausgezeichnetem Einklang stehen mit den Abschätzungen des Ortho-Einflusses, die die Gesamtheit der intermolekularen Reaktionen vorzunehmen gestattet.

b) Anellierungen am Naphthalinsystem

Für alle Ringschlüsse, die keiner o-Beziehung zwischen den reagierenden Gruppen bedürfen, d. h. nicht über eine Doppelbindung stattfinden müssen, existiert keine Bevorzugung des angularen vor dem linearen Mechanismus. Es nimmt daher nicht Wunder, daß sich 2,3-Naphtylendiamin genau so glatt und quantitativ mit Ameisensäure^{54c)} und salpetriger Säure⁵⁶⁾ umsetzt wie das 1,2-Diamin, wobei die linearen und angularen Napht-imidazole, bzw. Naphto-triazole entstehen. Der Triazol-Ringschluß entspricht hinsichtlich seines Mechanismus der Bildung einer Diazo-amino-Verbindung, hier lediglich durch die räumliche Nähe der Gruppen erleichtert. Eine Ortho-Aktivierung ist hier ebenso wenig erforderlich wie beim Imidazolringschluß, für den sogar die aliphatische Reihe eine Analogie aufweist im Übergang von Äthylendiamin in Imidazolin-Derivate.

Esterkondensationen und Ketonsynthese aus carbonsauren Salzen bedürfen, wenn sie zwischen zwei Seitenketten zustandekommen, lediglich der räumlichen Ortho-Stellung der Substituenten. Die Synthese der Indoxylsäure durch Kalischmelze der Phenylglycin-o-carbonsäure sowie die Esterkondensation von deren Dialkylester zu Indoxylsäure-ester⁵⁷⁾ sollten daher auf die 2,3-Stellung des Naphthalins genau so gut übertragbar sein wie auf die 1,2-Positionen. Die erste der Reaktionen wurde von H. E. Pierz und R. Tobler⁵⁸⁾ durchgeführt, das lineare Naphtindoxyl in 2,3,2',3'-Naphtindigo übergeführt.

Anellierungen unter Mitwirkung eines Kernwasserstoffatoms von einer β -Seitenkette aus finden wegen der Bevorzugung des butadienoiden Anregungsschemas nur angular statt. Bei blockierter α -Position hängt der Verlauf der Ringschlußreaktion von ihrem Bedarf an Ortho-Aktivierung ab. Wie die Fig. 1 zeigt, sind im Bereich kleiner Anregungsenergien auch die Differenzen der Energieniveaus beider Anregungstypen relativ klein. Bei Blockierung der Position 1 vermögen daher Ringangliederungen, die sich mit einem mäßigen Doppelbindungsgrad zwischen 2 und 3 begnügen, auch über diese Stellungen, also linear zu

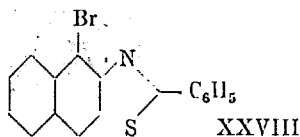
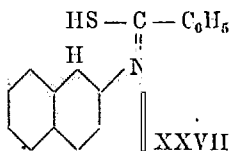
^{54c)} P. Friedländer und Zakrzewski, B. 27, 765 (1894).

⁵⁷⁾ D. Vorländer, B. 35, 1683 (1902).

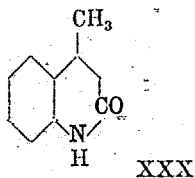
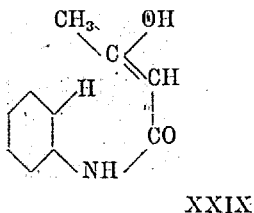
⁵⁸⁾ Helv. 5, 557 (1922).

erfolgen. Die steigende Erschwerung des Ringschlusses gibt sich meist in einem Absinken der Ausbeute und der Notwendigkeit schärferer Reaktionsbedingungen zu erkennen. Die Ausbeute ist nur ein Hinweis, kein in quantitativem Sinne verwertbares Maß, da sie von der Möglichkeit des Systems, Nebenwege zu beschreiten, abhängt.

Eine Reaktion, die sich anscheinend mit einer geringen Ortho-Beziehung begnügt, liegt in der Benzo-thiazol-Synthese vor, bei der die Thiolgruppe des Thio-benzanilids mit dem Kern „zusammen“-oxydiert wird. Benz-thio- β -naphthalid (XXVII) schließt den Thiazolring natürlich angular. Ist die 1-Stellung mit Brom besetzt, unterliegt das 3-ständige Kernwasserstoffatom der Oxydation; nach Fries und Buchler⁵⁹⁾ entsteht glatt der lineare Tricyclus (XXVIII).



Einer bereits merklich höheren Ortho-Aktivierung bedarf eine Gruppe von Ringschlußreaktionen, bei denen sich der Kernwasserstoff an die Doppelbindung einer in der Seitenkette befindlichen Enolgruppierung addiert⁶⁰⁾. Die hierher gehörende Knorr'sche Carbostyryl-Synthese nimmt in der Reihe der einfachen Acetessigsäurearylide einen so glatten, nicht spurenweise von Nebenreaktionen begleiteten Verlauf¹⁸⁾, daß die Kondensation von XXIX zu XXX sich ohne Verfärbung der Reaktionslösung vollzieht. Der angularer Verlauf des Ringschlusses vom β -Naphthylamin aus läßt sich bei Sperrung der 1-Stellung durch Methyl oder Brom glatt in die lineare Richtung lenken zu (VI). Die notwendige Ver-



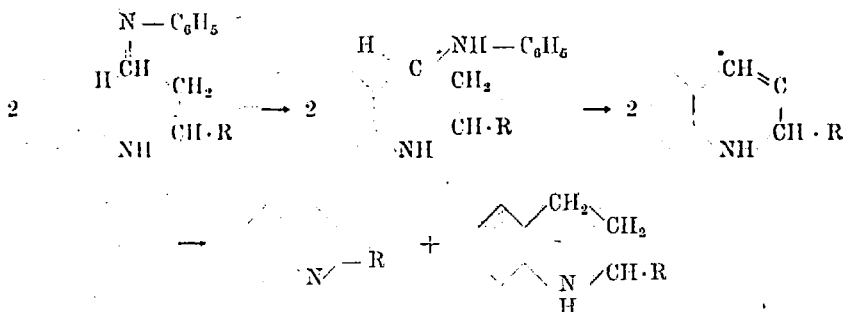
schärfung der Reaktionsbedingungen zeigt, daß die lineare Ringangliederung einer merklich höheren Anregungsenergie bedarf. Dem gleichen Reaktionstyp sollte auch die γ -Oxy-chinaldin-Synthese nach Con-

⁵⁹⁾ A. 454, 260 (1927).

⁶⁰⁾ Die Möglichkeit einer direkten Wasserabspaltung des Kern-H gegen das Enol-OH soll nicht ausgeschlossen werden.

rad und Limpach¹⁹⁾ sowie die Darstellung von 2,4-Dimethyl-chinolin und Derivaten aus Arylamin und Acetylaceton nach Combes⁶¹⁾ entsprechen. Während die lineare Angliederung des γ -Oxy-pyridinsystems über die 2,3-Stellung des Naphthalins zu (IX) (S. 105) glatt gelingt, versagt die Cyclisierung des Azomethins aus Arylamin und Acetylaceton schon in der Benzolreihe sehr häufig⁶²⁾. Aus noch undurchsichtigen Gründen benötigt die Reaktion eine höhere Anregung.

Eine erheblich stärkere Ausbildung der Anregungsstruktur verlangen die sauren Kondensationen von Arylaminen mit Aldehyden und resp. oder Ketonen, die in die Chinolinreihe führen. Hierher gehören die Synthesen nach Skraup, Doebner-v. Miller, Beyer und Blaise-Maire. Wie die zahlreichen Untersuchungen zum Reaktionsmechanismus gelehrt haben, findet entweder Addition des Kernwasserstoffs an die Aldehydgruppe oder an die Azomethin-Bindung der sog. „dimeren Schiffbase“ statt, wie in folgendem Schema gezeigt:



Bei der Skraupschen Synthese läßt sich durch Zusatz eines Oxydationsmittels die Dihydrochinolin-Stufe glatt dehydrieren. Bei der Doebner-v. Millerschen Synthese ist die Instabilität des α -Alkyl-dihydro-chinolins so groß, daß die Disproportionierung zu Chinolin- und Tetrahydrochinolinderivat jeder anderen Reaktion den Rang abläuft. Oxydierende Zuschläge sind hier, wie eigene Versuche zur Chinaldin-Synthese aus p-Nitranilin zeigten, ohne jeden Einfluß.

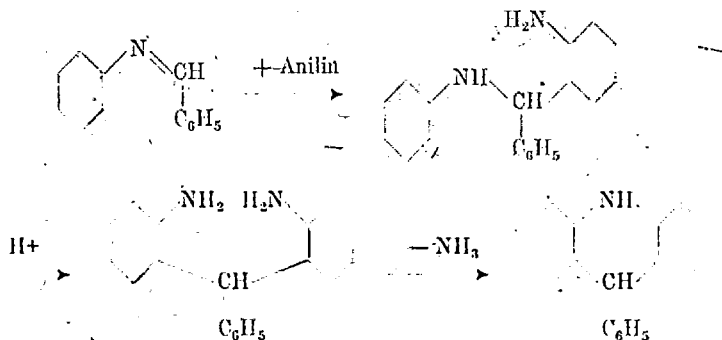
Wie schon der im Vergleich zu den oben erwähnten Synthesen weniger glatte Verlauf vermuten läßt, benötigen diese Chinolinsynthesen einen recht hohen Betrag an Anregungsenergie, an Doppelbindungscharakter. Einer 70–80proz. Ausbeute an angularem Benzochinolin aus β -Naphtylamin entsprechen 30 % an linearen Tricyclus (IIIa) bei Methyl-Blockierung der α -Stellung. Brom- und Nitrogruppe werden verdrängt, wenn sie dem angularen Ringschluß im Wege stehen. Die Aktivierungsenergie der angularen Anellierung setzt sich hier aus der

⁶¹⁾ Bl. 49, 90 (1888); C. r. 106, 42. Siehe Anm. b. d. Kor. S. 152.

⁶²⁾ E. E. Turner, Soc. 1927, 1; E. Roberts und E. E. Turner, Soc. 1927, 1832; R. C. Fawcett und R. Robinson, Soc. 1927, 2254.

Energie der butadienoiden Anregung und der Arbeit der Substituentenverdrängung zusammen. Diese Summe bleibt bei Substitution durch Brom oder Nitrogruppe noch unter dem Wert der für den linearen Ringschluß notwendigen benzoiden Anregung. Erst mit Chlor als blockierendem Substituenten werden die für die beiden Anellierungstypen aufzubringenden Energiebeträge vergleichbar, wie das gleichzeitige Auftreten des angularen und linearen Tricyclus zeigt. Eine Abdrängung der 1-ständigen Methylgruppe ist nicht spurenweise nachweisbar; hierfür die benzoide Anregung früher zum Reaktionserfolg.

Den Vorzug, den Ringschlußreaktionen hinsichtlich des geringeren Bedarfs an Anregungsenergie vor den intermolekularen Reaktionen genießen, zeigt ein Vergleich der Skraup-Reaktion mit einer intermolekularen Reaktion von gleichem Mechanismus. Erhitzen von Benzal-anilin mit Anilin-chlorhydrat führt zum Phenyl-dihydro-acridin⁶³, eine Reaktion, die β -Naphthylamin besonders leicht eingeht^{24b}. Auf Grund zahlreicher Analogien auf allen Stufen dürfte der Mechanismus folgender sein:



Die erste Stufe besteht in einer Addition des Arylamins mit dem aktivierten o-ständigen Kernwasserstoff an die Doppelbindung des Azomethins, die gleiche Reaktion, die den Skraup-Ringschluß einleitet. 1-Methyl-naphthyl-amin-(2) ergibt, der beschriebenen Reaktion unterworfen, keine Spur des Dihydro-acridin-derivats. Das Ergebnis deckt sich also mit der vielfältigen Erfahrung, daß das für intermolekulare Reaktionen erforderliche Maß an benzoider Anregung unter normalen Temperaturbedingungen kaum je erreicht wird.

Eine ausnehmend starke o-Aktivierung erfordern molekulare Umlagerungen vom Typus der Hydrazo-Umlagerungen. Die Fischersche Indolsynthese enthält auf der ersten Stufe eine solche Umlagerung vom o,o-Typus. Diese bei Blockierungsversuchen maßgebende Stufe ist bei der Fischer-Synthese gar keine Ringschlußreaktion, unterliegt daher auch nicht der Förderung durch die Ringbildungstendenz, die hier erst der zweiten Stufe zugute kommt, der Abspaltung von Ammoniak aus zwei Amino-gruppen. Bei der S. 105 beschriebenen Indolsynthese vom 1-Methyl-naphthyl-hydrazin-(2) aus bleibt die Summe des Wertes der butadienoiden Anregung und der Spaltungsarbeit der C-Methyl-Bindung hinter der für eine ausreichende Aktivierung der Stellung 3 nötigen Energie der benzoiden Anregung zurück, wie der Verlauf unter Methylabspaltung unter den erforderlichen, recht brutalen Reaktionsbedingungen zeigt.

⁶³) O. Haase, B. 36: 591 (1903).

Ebenso wie der Systematik der Ringschlußreaktionen vermag die altbekannte, jetzt in neuem Licht erscheinende Bevorzugung der 1,2- vor der 2,3-Reaktivität im Naphthalinkern auch anderen Problemkreisen der org. Chemie wertvolle Dienste zu leisten. Die Behandlung des Orthoeffektes sei erwähnt. Das Studium von Behinderungsreaktionen bei 1,2- und 2,3-subst. Naphthalinderivaten dürfte eine Aufteilung des „sterischen“ Effekts in einen rein räumlichen und einen durch Doppelbindungssystem geleiteten Anteil ermöglichen. Wertvolle Aufschlüsse liefert die Anellierungsmethode aber auch bei der vergleichenden Abschätzung des aromatischen Charakters von bicyclischen Systemen mit Heteroatomen.

V. Naphtoide und benzoide Bicyclen

In schönen Experimentalarbeiten hat K. Fries²⁴⁾ die Reaktivität aromatischer Bicyclen mit Heteroatomen mit der des Naphthalins verglichen und eine Klassifizierung vorgenommen in „naphtoide“ Bicyclen, die wie das Naphthalin über ein starres Doppelbindungssystem verfügen sollen, und in benzoide Typen mit ungestörter Oszillation des Doppelbindungssystems. Die mannigfachen Übergänge zwischen diesen Extremen deutet Fries^{24b)} mit verschiedener Lage eines Gleichgewichts zwischen den tautomeren Formen mit symmetrischer und unsymmetrischer Bindungsverteilung. Die Gleichgewichtskonstante soll für benzoide Typen etwa 1 betragen, dann ansteigen und für die naphtoiden Systeme hohe Werte erreichen.

Auf dem Boden der hier entwickelten Energetik des Anregungsvorganges bereitet die Deutung dieses Phänomens keine Schwierigkeit. Stets beherrscht die Mesomerie den nicht mit Lewis-Langmuir-Strukturen wiederzugebenden Grundzustand. Für die Reaktionsweise maßgebend ist das Verhältnis der für die butadienoide und benzoide Anregung erforderlichen Energiebeträge. Die Energieniveaus der butadienoiden (XXXI) und benzoiden (XXXII) Grenzstruktur unter-



XXXI



XXXII

scheiden sich im wesentlichen um den Wert der Resonanzenergie des anellierten Heteroringes, der einfach mit Kreis symbolisiert ist. Je geringer die Resonanzenergie dieses Ringes, um so kleiner der Energieunterschied der beiden Anregungstypen. Es ergibt sich:

Naphtoide Bicyclen sind durch starke Vorrangstellung der butadienoiden Anregung charakterisiert.

Benzoide Bicyclen zeigen in wechselnder Ausprägung auch β, β -Reaktivität infolge energetischer Erreichbarkeit der benzoiden Anregung.

Entsprechend dem Nullwert der Resonanzenergie in partiell hydrierten Ringen findet man die reinsten benzoiden Bicyclen in Tetralin und Cumarin. Anellierungen liefern hier stets Gemische von linearen und angularen Tricyclen⁶⁴⁾. Für das Cyclopentadien ermittelte Kistiakowsky⁶³⁾ aus Hydrierungswärmen eine Resonanzenergie von nur 3 kcal. Entsprechend diesem kleinen Energiebetrag zeigt das Inden keinerlei Bevorzugung einer Reaktionsformel.

⁶¹⁾ Vgl. Fußnote 17; G. Schroeter, Müller und Huang, B. 62, 645 (1929); C. L. Hewett, Soc. 1938, 1286.

Die zur Ermittlung der Resonanzenergie günstigste Methode, die experimentelle Bestimmung der Hydrierungsenthalpie, dürfte bei heterocyclischen Systemen häufig auf Schwierigkeiten stoßen. Diese können, wie etwa beim Benzimidazol, in einer äußerst schweren Hydrierbarkeit⁶⁵⁾ liegen oder aber in der evtl. Unmöglichkeit, die entsprechende Hydrierungswärme der fiktiven polyolefinischen Form aus Modellsubstanzen zu ermitteln. Andere Methoden zur zahlenmäßigen Bestimmung der aromatischen Natur von Bicyclen, etwa die von L. F. Fieser⁶⁶⁾ über die Chinonpotentiale, erwiesen sich in ihrer Anwendbarkeit ebenfalls als begrenzt.

Als allgemein verwendbare Methode für eine solche Bestimmung im Sinne einer vergleichenden Abschätzung bleibt somit die präparativ-chemische Ermittlung des Energieunterschieds der benzoiden und butadienoiden Anregung, der Weg also, den schon Fries beschritten hat.

In den bislang betrachteten bicyclischen Systemen wird der Energieunterschied zwischen butadienoider und benzoider Anregung, der für Benzol den Wert Null besitzt, durch den Einbau einer Doppelbindung in ein System mit aromatischer Resonanz hervorgerufen. Wie das von K. Fries und H. Bestian⁶⁷⁾ untersuchte o-Divinyl-benzol zeigt, führt auch schon die Mesomerie eines offenen Hexatriensystems zu einem merklichen Unterschied der Anregungsenergien im Kern. Das von Fries postulierte starre Bindungssystem ist natürlich auch hier zu ersetzen durch Bevorzugung der butadienoiden Anregung.

Daß ein Energieunterschied der beiden Anregungstypen auch sterischen Kräften sein Auftreten verdanken kann, zeigt der Fall des Mills-Nixon-Effekts. Die von den Entdeckern des Effekts angenommene Strukturfixierung des Hydrindens wurde nach gründlicher experimenteller Prüfung im Sinne von Unterschieden im Anregungsvorgang⁶⁸⁾ gedeutet.

Um die Vorteile der Anellierungsmethode vor den intermolekularen Reaktionen, die zu dem irrtümlichen Schluß einer Bindungsfixierung im Naphthalin führten, herauszustellen, wurden die am Naphthalin entwickelten Vorstellungen an den von Fries nicht experimentell bearbeiteten Heterocyclen Chinolin und α -Oxy-chinolin nachgeprüft.

VI. Die Reaktionsweise des Chinolins und α -Oxy-chinolins

Die klassischen Arbeiten von Th. Zincke⁶⁹⁾ zur Chlorierung der Oxy-chinoline, die beim 6-Oxy-chinolin wie beim β -Naphtol zum Keto-chlorid führt, sowie die von Skraup durchgeführte zweifache Chinolinsynthese am m- und p-Phenylendiamin, die nur die angularen Phenanthroline liefert, überzeugten W. Marckwald¹⁾ von der Bindungsfixierung des Chinolins im Sinne der von Körner 1869 angegebenen Doppel-

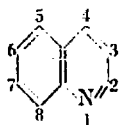
⁶⁵⁾ O. Fischer, B. 22, 645 (1889); K. Fries, Güterböck und Kühn, A. 511, 213 (1934); s. a. Fußnote 24c.

⁶⁶⁾ Am. 57, 1840 (1935).

⁶⁷⁾ B. 69, 715 (1936); A. 533, 72 (1938).

⁶⁸⁾ A. Kossiakoff und H. D. Springall, Am. 63, 2223 (1941).

⁶⁹⁾ B. 21, 2977 (1888); A. 264, 196 (1891); 290, 321, 359 (1896).



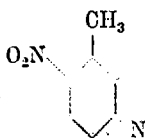
XXXIII

bindungsstruktur (XXXIII). Die Kupplung von Diazoniumsalzen mit Aminen der Chinolinreihe⁷⁰⁾ zeigt ebenfalls die Ungleichheit der Orthopositionen in diesem Ringsystem.

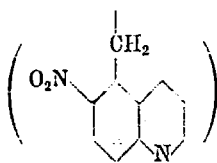
Während Substitutionen im Naphthalinkern durch die Gleichwertigkeit der beiden Kerne eine Komplizierung erfahren, liegen die Verhältnisse beim Chinolin wesentlich einfacher. Der Einfluß des Pyridin-Stickstoffes in m-dirigierender Wirkung und Herabsetzung der Reaktivität entspricht⁷¹⁾ bekanntlich dem eines Kern-Kohlenstoffs mit Substituenten zweiter Ordnung. Mit Ausnahme der Bromierung, die im Bz-Anteil einer noch unklaren Hemmung unterliegt und erst unter energischen Bedingungen in Position 8 stattfindet, erfolgen alle Substitutionen im Benzolteil der Chinolinmolekel.

Das Chinolin erweist sich als *naphthoides System* im Sinne von Fries. Wie das Naphthalin so reagiert auch das Chinolin bei intermolekularen Reaktionen allein in der butadienoiden Anregungsform. Erst bei Ringschlußreaktionen tritt auch die Reaktivität nach dem benzoiden Schema in Erscheinung, womit auch hier die Annahme einer fixierten Bindungsstruktur als Fehlschluß erwiesen ist. Als intermolekulare Reaktion wird die Reaktivierung der Methylgruppe durch o- oder p-ständige Nitrogruppe herangezogen, eine bislang noch nicht zum Nachweis von Bindungsstrukturen verwendete Methode.

Zur Synthese methyl-substituierter 6-Nitrochinoline ist man auf die Skraup-Synthese angewiesen mit methylierten p-Nitranilin-Derivaten als Ausgangsmaterial. Während m-Toluidin nur 7-Methylchinolin ohne Beimengung des 6-Methyl-Isomeren ergibt, wird dieser Auswahl-effekt durch Einführung einer Nitrogruppe verwischt. Das 2-Nitro-5-amino-toluol liefert ein Gemisch von 6-Nitro-5-methyl- und bevorzugt 6-Nitro-7-methyl-chinolin.



XXXIV



XXXV

Das 6-Nitro-5-methyl-chinolin (XXXIV) ist sehr alkali-empfindlich. Der Bildung des p,p'-Dinitro-dibenzyls aus p-Nitrotoluol⁷²⁾ entsprechend entsteht hier glatt das Dinitro-dichinolyl-äthan der Formel XXXV. Die Bildungstendenz dieses Körpers in alkalischer Lösung ist so groß, daß selbst ein kräftig reduzierendes Medium wie alkalische Arsenitlösung die dehydrierende dibenzyl-artige Verknüpfung nicht zu unterbinden

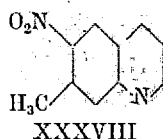
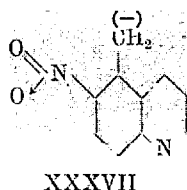
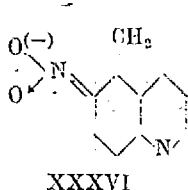
⁷⁰⁾ R. R. Renshaw, H. L. Friedmann und F. J. Gajewski, Am. 61, 3322 (1939).

⁷¹⁾ H. Decker, J. prakt. Chem. 84, 238 (1911).

⁷²⁾ O. Fischer und E. Hepp, B. 26, 2231 (1893).

vermag. Vom Stammkörper in der Benzolreihe, dem o-Nitro-toluol sind in alkalischem Medium nur Reaktionen unter Sauerstoffverschiebung bekannt. Mit Kaliumäthylat in Äther läßt sich jedoch auch das o,o'-Dinitro-dibenzyl fassen. Die Neigung zu dieser dehydrierenden Dimerisation findet sich bei XXXIV so gesteigert, daß sich die Oxalesterkondensation nach A. Reissert⁷³⁾ nicht vom o-Nitrotoluol auf XXXIV übertragen ließ. Selbst unter den mildesten Kondensationsbedingungen wird nur Bildung von XXXV beobachtet.

Die Dimerisation läßt sich in saurem und neutralem Medium auch mit Oxydationsmitteln nicht erzielen. Die notwendige Wirkung des Alkalis dürfte in einer Salzbildung der *aci*-Nitro-Form (XXXVI), die o-chinoid gebaut ist, liegen. Das entstehende Anion wird alsdann von der Nitrogruppe, die in alkalischem Medium ein besonders kräftiger Elektronenacceptor ist, in der mesomeren Grenzformel (XXXVII) oxydiert zum sich sofort dimerisierenden Radikal. Nur bei Verbindung von Nitro- und Methylgruppe durch ein Doppelbindungssystem besteht die Möglichkeit zur Bildung des chinoiden Anions. Der Grundreaktion in der aliphat. Reihe begegnet man in der Oxydation von Nitro-äthan zu 2,3-Dinitro-butan⁷⁴⁾. Die alkalische Dimerisation kann mithin als Test gelten für *verbindendes ungesättigtes System* in den Anregungszuständen aromatischer Nitro-methyl-Verbindungen. Der Erwartung, daß 6-Nitro-5,8-dimethyl-chinolin, 5-Nitro-8-methyl-chinolin und das 6-Nitro-2,5-derivat in gleicher Weise reagieren, entsprechen die experimentellen Ergebnisse. Nur beim 5-Nitro-6-methyl-chinolin erwies sich die unter Sauerstoffverschiebung verlaufende intramolekulare Redoxreaktion als so begünstigt, daß auch unter milden Bedingungen nur die 5-Amino-chinolin-6-carbonsäure⁷⁵⁾ gefaßt werden konnte.



Völlig abweichend ist dagegen das Verhalten des 6-Nitro-7-methyl-chinolins (XXXVIII), das erst unter sehr verschärften Reaktionsbedingungen verändert wird. Beim Kochen mit 30proz. Natriummethylat-Lösung erfolgt, ohne Beteiligung der Methylgruppe Reduktion der Nitrogruppe, die hier den gleichen Verlauf nimmt wie beim 6-Nitro-chinolin selbst.

Bei dieser Reduktion des 6-Nitro-chinolins werden über die Bildung des Azoxykörpers hinaus zwei Wasserstoffatome entfernt, wie schon C. Knüppel⁷⁶⁾ konstatierte und eine neue Analyse bestätigt. Die große Stabilität der N-N-Bindung in diesem mit 80proz. Ausbeute entstehenden Azoxykörper ist nur vereinbar mit einer Formulierung (XXXIXa)

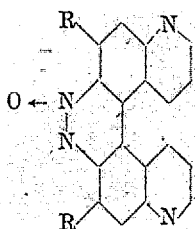
⁷³⁾ B. 30, 1030 (1897).

⁷⁴⁾ A. Angeli und Alessandri, Rend. Linc. 19, 784 (1910).

⁷⁵⁾ M. T. Bogert und H. L. Fischer, Am. 34, 1570 (1912).

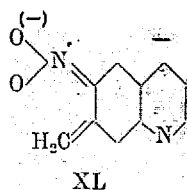
⁷⁶⁾ A. 310, 75 (1900).

als N-Oxyd des mit zwei Chinolinkernen kondensierten o-Diazins, zu welchem letzterem das N-Oxyd leicht reduzierbar ist. Bemerkenswert ist das abweichende Verhalten des 2-Nitro-naphthalins, das beim Kochen mit methylalkoholischer Kalilauge neben einigen Prozent des analogen Dinaphto-o-diazin-N-oxyds 70 % β -Naphthochinon-2-oxim liefert⁷⁷⁾.



XXXIX

- a), R = H
b) R = CH₃



XL

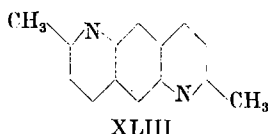
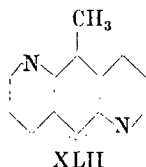
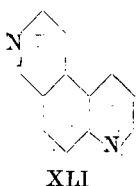
Die Bildung des entsprechenden o-Diazin-derivats (XXXIX b) bei der Alkalibehandlung von XXXVIII und analoger Körper aus 6-Nitro-8-methyl- und 6-Nitro-7,8-dimethyl-chinolin zeigt, daß die Bildung des *aci*-Nitro-Salzes (XL) nicht möglich ist. Das Ausmaß der erzielbaren benzoiden Anregung reicht zur Bildung der erforderlichen 6,7-chinoiden Struktur bei weitem nicht aus. Es ist nicht weiter erstaunlich, daß auch die Oxalester-Kondensation beim 6-Nitro-7-methyl-chinolin versagt, da diese ja ebenfalls der vorausgehenden Salzbildung der *aci*-Nitro-Form bedarf.

Einige Versuche seien angeschlossen, die die hohe Reaktivität der Position 5 dartun. 6-Nitrochinolin liefert mit Kaliumcyanid in Alkohol das 5-Cyan-6-äthoxychinolin, wobei das 5-Cyan-6-nitro-chinolin Vorstufe sein dürfte. Die Benzolreihe weist eine Parallele auf im Verhalten des m-Dinitrobenzols, das unter gleichen Bedingungen 2-Äthoxy-6-nitro-benzonitril gibt⁷⁸⁾. Der anellierte Kern entspricht also hier in auflockernder Wirkung der zweiten Nitrogruppe. Das 6-Nitro-chinolin wird von Hydroxylamin in alkalischer Lösung mit beispielloser Leichtigkeit in der Stellung 5 aminiert. Bei der Diazotierung des entstehenden 6-Nitro-5-amino-chinolins in salzsaurer Lösung erfolgt mit großer Geschwindigkeit ein Austausch der Nitrogruppe gegen Chlor, das aus dem Reaktionsmedium stammt. Als Umsetzungsprodukt des Diazoniumsalzes mit Jodwasserstoff wurde nämlich 5-Jod-6-chlorchinolin isoliert. Der Austausch der Nitrogruppe gegen Alkoxy im ersten, gegen Chlor im zweiten Fall hat Parallelen im Verhalten von Körpern mit Häufung o-ständiger Substituenten zweiter Ordnung.

Daß das butadienoides Schema nicht die einzige Reaktionsmöglichkeit des Chinolinkerns darstellt, lassen erst Ringschlußreaktionen erkennen. Zunächst ergab sich, daß die Bildung des p-Phenanthrolins (XLI) aus 6-Amino-chinolin durch Brom oder Nitrogruppe in der Stellung 5 nicht blockiert werden kann, sondern wie im analogen Fall der Naphthalinreihe unter Substituentenabstossung stattfindet. Das 5-Methyl-

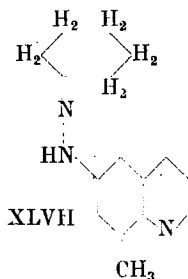
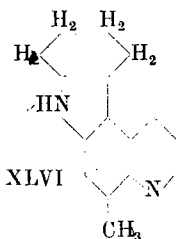
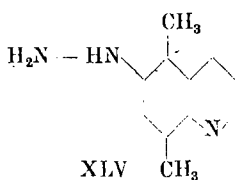
⁷⁷⁾ J. Meisenheimer und K. Witte, B. 36, 4164 (1903).

⁷⁸⁾ Lobry de Bruyn und J. W. v. Geuns, Rec. 2, 205 (1883); 23, 26 (1904).



6-amino-chinolin liefert unter optimalen Reaktionsbedingungen der Skraup-Synthese bei sorgfältiger Aufarbeitung 1 % des linearen Tricyclus (XLII), der der „Anthrazolin“-Reihe angehört. Von diesem Ringgerüst ist bereits ein Vertreter bekannt, das von Ruggli⁷⁹⁾ auf mühsamem Weg aus einem Benzolderivat mit 4 vorgebildeten Seitenketten dargestellte „Benzo-dipicolin“ (XLIII). Die unterscheidenden Kriterien der Phenanthrolin- und Anthrazolinreihe sind die intensiv blaue UV-Fluoreszenz und die gelbe Salzfarbe der letzteren.

Nach H. Wieland und L. Horner⁸⁰⁾ liefert das Chinolyl-6-hydrazon des Brenztraubensäureesters bei der Fischerschen Indolsynthese das 5,6-(N)-Pyrro-chinolin. Bei Blockierung der Stellung 5 und 8 mit Methyl (XLV) ließ sich wie beim oben beschriebenen Analogon der Naphthalinreihe die Fischer-Synthese erst durchführen bei Berücksichtigung der speziellen Bildungstendenz α,β -disubstituierter Indole. Hier führt schon Kochen des Hydrazin-chlorhydrats mit Cyclohexanon-Eisessig unter Methylabstoßung in 30proz. Ausbeute zum angularen Tetrahydro-



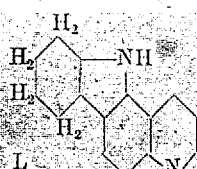
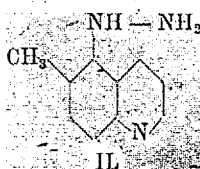
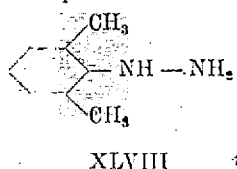
carbazol-Derivat (XLVI). Der Konstitutionsbeweis wurde durch Identifikation mit dem Cyclisierungsprodukt des methyl-freien Hydrazons (XLVII) geführt. Die milderen Reaktionsbedingungen und höhere Ausbeute im letzteren Falle verdeutlichen wieder den Widerstand, den die C-Methylgruppe ihrer Verdrängung entgegensetzt.

Die Vermutung, daß die Abspaltung der Methylgruppe nur möglich ist aus der an sich hochreaktiven α -Position der Bicyclen, ließ sich leicht widerlegen. In der

⁷⁹⁾ P. Ruggli und F. Brandt, *Helv.* **27**, 274 (1944); P. Ruggli und E. Girod, *Helv.* **27**, 1464 (1944).

⁸⁰⁾ A. **536**, 89 (1938).

Benzolreihe ist zwar die Beobachtung des entsprechenden Effekts noch nicht möglich, da die Synthese des vic-m-Xylyl-hydrazins (XLVIII) nicht gelang. Doch konnte die Methylverdrängung in allerdings viel geringerer Ausbeute erzielt werden bei der



Cyclisierung des 5-Hydrazino-6-methyl-chinolins (IL) in Cyclohexanon-Eisessig zum 5(N),6-Pyrrochinolin-Derivat (L), dessen Konstitution auf analoge Weise bewiesen wurde.

Beim Chinolin wird anscheinend das benzoide Anregungsschema noch schwieriger ausgelöst als beim Naphthalin. Während 6-Amino-chinolin und β -Naphthylamin beim Skraup-Ringschluß die gleiche vorzügliche Ausbeute am angularen Tricyclus liefern, vollzieht sich bei Methylblockierung der lineare Ringschluß im Falle des Chinolins erheblich schwerer als beim Naphthalin, wie das Ausbeuteverhältnis von 1%:30% zeigt. Das Ergebnis würde sich decken mit der auch anderweitig gut begründbaren Annahme einer gegenüber dem Benzol höheren Resonanzenergie des Pyridinringes. Die erschwerte Substituierbarkeit des Pyridins und Chinolins deutet auf einen größeren Energiwall hin, der bei der Molekülanregung zu überwinden ist. Die vielfach betonte Analogie des Pyridins mit einem negativ substituierten Benzol würde nur eine Bestätigung darstellen, da das Nitrobenzol seine geringere Reaktivität z. T. einer erhöhten Resonanzenergie verdankt⁸¹). Die im Vergleich mit Benzol leichtere Hydrierbarkeit des Pyridins und Chinolins stellt kein Gegenargument dar, da ihr eine entsprechend leichtere Dehydrierbarkeit der Hydrierungsprodukte gegenübersteht. Auch bei der Verwertung von Befunden wie der Oxydation des Chinolins zur Pyridin-2,3-dicarbonsäure ist Vorsicht geboten.

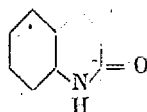
Die aus Verbrennungswärmen ermittelte Hydrierungswärme des Pyridins liegt mit 39,3 kcal erheblich unter dem Wert der Benzolhydrierung, die mit 49,8 kcal exotherm ist. Unter Berücksichtigung gewisser Korrekturen⁸²) ergibt sich mit rund 44 kcal eine recht hohe Resonanzenergie des Pyridins.

Das α -Oxy-chinolin weicht in seiner Reaktivität grundlegend von der Muttersubstanz ab, was unschwer theoretisch begründbar ist. Von

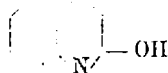
⁸¹) Beeinflussung der Resonanzenergie durch Substituenten diskutierten L. Pauling und J. Sherman, siehe Fußnote 51.

⁸²) Wegen des Auftretens von C—N-Bindungen darf der Berechnung der Resonanzenergie nicht der Cyclohexenwert zugrunde gelegt werden. Die Hydrierungswärme des fiktiven triolefinischen Pyridinsystems ergibt sich aus der Differenz der atomaren Bildungswärmen von Pyridin und Piperidin.

den beiden tautomeren Formen des Carbestyrils (LI) herrscht die Lactamform vor, wie der Vergleich der Absorptionsspektren des Carbestyrils mit seinem O- und N-Methyl-äther zeigt⁸³⁾. Die thermische Umlagerung von 2-Aryloxy- und 2-Alkoxy-pyridinen in N-Aryl- bzw. N-Alkyl-pyridone zeigt die energetische Bevorzugung der Substituenten-haftung am Stickstoff. Die Ähnlichkeit des Chinolinsystems mit seinem α -Oxyderivat in der UV-Absorption⁸⁴⁾ sowie die Säure- und Alkali-löslichkeit des Carbestyrils zeigen, daß der heterocyclische Ring seinen aromatischen Charakter bewahrt hat. Die diesen Anforderungen ge-nügende Betain-Formel (LII) dürfte dem Grundzustand des Carbestyrils am nächsten kommen.



LI



LII

Die Säureamidgruppierung stellt wie der aromatische Kern ein mesomeriefähiges System dar. Die Resonanzenergie dieses Systems wird zu 21 kcal⁵¹⁾ angegeben. Die Berechtigung, eine Zwitterion-struktur als energiereichere mesomere Grenzformel des Säureamid-systems zu diskutieren, ergibt sich aus chemischen⁸⁵⁾ und physikali-schen⁸⁶⁾ Befunden. Während im Typus Acetanilid sich die beiden Re-sonanzsysteme nebeneinander auszubilden vermögen, arbeiten im α -Pyridon und Carbestyryl die aromatische und die Säureamid-Mesomerie einander entgegen, was einem Verlust an Resonanzenergie gleichkommt. Durch die Einbeziehung der Säureamidgruppierung in das aromatische System wird die Betainstruktur zur energieärmeren, daher bevorzugten Grenzstruktur, wie sich schon aus dem amphoteren Charakter des α -Oxy-pyridin-Systems ergibt. Die Resonanzenergie des Pyridinkerns sollte ihrerseits bei der Konkurrenz mit dem mesomeren Amidsystem erhebliche Einbuße erleiden.

Diese Voraussage findet in den Reaktionen des Carbestyrils volle Bestätigung. Das α -Oxy-chinolin ist leicht katalytisch hydrierbar⁸⁷⁾ zum nicht mehr amphoteren Dihydroderivat. Im 2-Oxy-4-methyl-chinolin ist auch die für Lepidin und γ -Picolin charakteristische Reak-tionsbereitschaft der Methylgruppe zur Kondensation mit Aldehyden,

⁸³⁾ R. A. Morton und E. Rogers, Soc. 127, 2698 (1925); H. Ley und H. Specker, B. 72, 197 (1939).

⁸⁴⁾ Nach eigenen Beobachtungen in der Pyrrochinolinreihe.

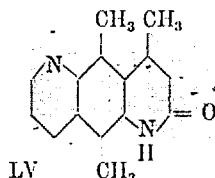
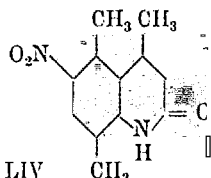
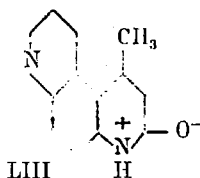
⁸⁵⁾ F. Arndt, B. 63, 2965 (1930); in diesem Zusammenhang auch die Harnstoff-arbeiten; zuletzt R. Wizinger, J. prakt. Chem. 154, 33 (1939).

⁸⁶⁾ K. v. Auwers, B. 63, 2117 (1930); R. W. G. Wyckoff und R. B. Corey, Z. Krist. 89, 462 (1934); F. Senti und D. Harker, Am. 62, 200 (1940).

⁸⁷⁾ E. Späth und F. Galinovsky, B. 69, 2059 (1936).

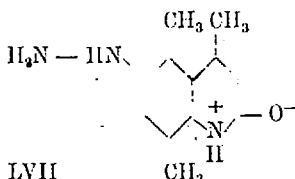
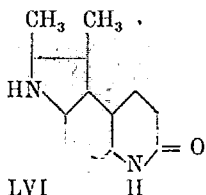
Oxalester oder Phthalanhydrid nicht mehr vorhanden. Der Eintritt der Nitrogruppe findet nicht mehr in der Bz.- α -Stellung, sondern in der Position 6 statt⁸⁸⁾; Carbostyryl wird also wie ein substituiertes Acetanilid in der p-Stellung nitrirt. Die typische α -Reaktivität naphtoider Bicyclen ist verloren gegangen, wie die Unfähigkeit des 6-Nitro-N-methyl-chinolons zur Aminierung mit Hydroxylamin zeigt.

Anellierungsversuche ergeben, daß das butadienoide Anregungsschema zwar bevorzugt ist, die um den Betrag der Resonanzenergie des Oxy-pyridin-Systems höhere benzoide Anregung jedoch auch noch leicht aufgebracht wird. Das 6-Amino-2-oxy-4-methyl-chinolin liefert bei der Skraup-Synthese den angularen Tricyclus (LIII). Das aus Acetoacet-p-xylylidid dargestellte 4,5,8-Trimethylcarbostyryl gibt ein Nitroderivat (LIV), das nach den Erfahrungen der Literatur die Nitro-



gruppe sicherlich in 6 trägt. Das bei der Reduktion erhaltene Amin gliedert bei der Skraup-Synthese glatt und mit unverminderter Ausbeute den Pyridinring linear an zum Anthrazolinderivat (LV).

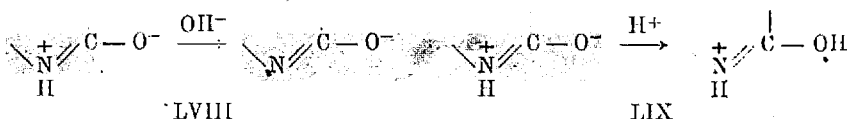
Das 2-Oxy-4-methyl-chinoly-6-hydrazon des Methyläthylketons ergibt beim Kochen in Eisessig das Pyrrochinolinderivat (LVI). Leider gelang die Übertragung der Fischer-Synthese auf das Methyl-blockierte Hydrazin (LVII) nicht. Bei allen Cyclisierungsversuchen wird der stickstoffhaltige Substituent von der Stellung 6 abgestoßen unter Rückbildung des 4,5,8-Trimethyl-carbostyryls.



Die Eigenschaften der α -Pyridongruppierung, in polycyclische Systeme eingebaut, gestatten die Erfassung der unterschiedlichen Resonanzenergien linearer und angularer Systeme. Beim α -Pyridon, Carbostyryl sowie bei den angularen Benzo- bzw. Pyrido-carbostyrylen (IV und LIII) überwiegt in Bezug auf den oben erwähnten Antagonismus der Säureamid-Mesomerie und der des aromatischen Systems die letztere. Das zeigt die Löslichkeit dieser Substanzen in Säure und Alkali. Beim linearen Benzo-(VI) und Pyrido-carbostyryl (LV) ist dagegen die aromatische Resonanz so weit abgeschwächt, daß die normalen Eigenschaften der Carbonamidgruppierung

⁸⁸⁾ P. Friedländer, A. 229, 243.

wieder stärker hervortreten in Form von fast völliger Unlöslichkeit selbst in konzentrierten wässrigen Säuren und Laugen. Die Löslichkeit der linearen Typen in alkoholischen Säuren und Laugen zeigt deutlich, daß es sich hier nur um eine graduelle Verschiebung des mesomeren Grundzustandes handelt. Die Annäherung an die normale Carbonamidstruktur schränkt also die Fähigkeit des Systems, als Kationsäure nach dem Schema LVIII oder als Anionbase nach LIX zu reagieren, weitgehend ein.



VII. Zur Reaktivität aromatischer Polycyclen

Die physikalische Theorie sieht eine Wiederholung des beim Übergang vom Benzol zum Naphthalin stattfindenden Abfalls des aromatischen Charakters bei weiterer Anellierung an das Pyridinsystem ansehend nicht voraus. Dem berechneten Verhältnis der Resonanzenergien von Benzol: Naphthalin mit 1:1,8 steht ein solches von 1:2,8 für Benzol: Anthracen und gar 1:2,85 für Benzol: Phenanthren gegenüber. Pauling und Sherman⁵¹⁾ ermittelten aus thermochemischen Daten nicht nur für das Naphthalin, sondern auch für Anthracen, Phenanthren, Chrysen einen von dem des Benzols kaum abweichenden Wert der Resonanzenergie pro Kern. Das Experiment zeigt jedoch, daß die sprunghafte Steigerung der Reaktivität beim Übergang von Benzol zum Naphthalin sich bei jeder Anellierung eines weiteren Kernes, zumindest bei jeder Linearanellierung wiederholt. Es erscheint gerechtfertigt, die zunehmende Reaktivität, d. h. die abnehmende Anregungsenergie auf Kosten einer ständigen Verminderung der Resonanzenergie zu setzen.

Niedrige Anregungsenergie bedeutet geringe Differenz zwischen der Resonanzenergie des Grundzustandes und der dem System im Anregungszustand verbleibenden Resonanz. Bei den linearen Polycyclen, den Acenen, wird die energieärmste Anregungsstufe schon unter Normalbedingungen so leicht erreicht, daß vom Pentacen ab die Reaktivität eine geradezu radikalartige ist. E. Clar⁸⁹⁾ spricht hier von einer Diyl-Form. Beim Pentacen dürfte die Resonanzenergie den Wert zweier Naphthalinkerne bereits unterschritten haben. Oberhalb 300° findet nämlich Disproportionierung in Kohlenstoff und Dihydro-pentacen statt⁹⁰⁾.

Ort und Ausmaß der Reaktivität sowie der Energieinhalt polycyclischer Systeme finden in der alten Doppelbindungsschreibweise keine ausreichende Deutung. In einem Acen beliebig hoher Kernzahl sind nämlich maximal nur 2 „echte“ Kerne mit Kekulé-Struktur, evtl. zusätzlich noch ein Dewar-Kern, möglich. Das Fehlen jeglicher prinzipieller Änderungen der Bindungsstruktur in der Acenreihe ergibt sich

⁸⁹⁾ Siehe E. Clar, *Aromatische Kohlenwasserstoffe*, Berlin 1941.

⁹⁰⁾ E. Clar und F. John, *B.* 63, 2969 (1930).

nicht nur aus dem gleichmäßigen Ansteigen der Reaktionsfähigkeit, sondern auch aus physikalischen Befunden wie z. B. aus den in ihren graduellen Unterschieden gesetzmäßig erfaßbaren Absorptionsspektren, den mit zunehmender Kernzahl abfallenden Chinonpotentialen usw. Erst recht versagt die alte Strukturlehre, gilt es, die reaktiven Zentren des Moleküls zu ermitteln. Diese müßten doch folgerichtig in den „unechten“, den olefinischen Kernen, in den Seitenteilen des Moleküls zu suchen sein im Widerspruch zu den experimentellen Ergebnissen.

Die neue Betrachtungsweise führt die bevorzugte Reaktivität bestimmter Kerne in polycyclischen Kohlenwasserstoffen auf den geringeren Energiebedarf ihrer Anregung zurück. Von den verschiedenen Möglichkeiten der unsymmetrischen Energieverteilung, der energetischen Disproportionierung (Anregungsstufe 2, S. 113) führt diejenige zum Reaktionserfolg, bei der der angeregte Kern die stärkste Annäherung an den olefinischen Charakter erfährt. Das ist aber gleichzeitig der Anregungszustand, bei dem die dem System verbleibende Resonanzenergie ein Maximum besitzt. Das Anthracen z. B. zeigt 9,10-Reaktivität, weil die Anregung des Mittelkerns der geringsten Energiezufuhr bedarf. Die Resonanzenergie zweier Benzolkerns, die dem Anthracen bei dieser *meso*-Anregung verbleibt, ist nämlich um 9 kcal größer als die eines Naphthalinkerns bei Anregung des Seitenringes des Anthracens. Entsprechendes gilt für die Bevorzugung der 9,10-Reaktivität des Phenanthrens, dem bei dieser Anregung die Resonanzenergie des Diphenyls verbleibt. Beim Anthracen entfällt natürlich die formelle Unterteilung des Anregungsaktes in einen aromatischen und einen olefinischen. Bei der Erfassung der reaktiven Zentren höherer polycyclischer Systeme mit linearen und angularen Anellierungen bedarf es noch der zusätzlichen Regel, daß die *p*-Reaktivität einen gewissen Vorzug genießt gegenüber der Reaktion nach dem *o*-Schema.

Eine für kondensierte Aromaten höchst charakteristische Erscheinung ist das Abnehmen des Substituenten-Einflusses auf Mesomerie-System und Anregungsvorgang mit der Erhöhung der Kernzahl. Eine Richtwirkung des ersten Substituenten auf den Eintritt des zweiten existiert beim Naphthalin noch, verblaßt aber schon stark bei den tricyclischen Systemen. Für Perylen und Pyren⁹¹⁾ existiert für die Mehrfachsubstitution eine konstante Reihenfolge der Positionen, wobei zwischen Substituenten erster und zweiter Ordnung kein Unterschied mehr besteht. Der Effekt ist folgendermaßen deutbar: Das Benzol liefert seiner sechszähligen Symmetrie entsprechend 6 energetisch und konstitutiv gleiche Anregungszustände mit jeweils polaren und unpolaren Strukturen. Ein vorhandener Substituent prägt der Ladungsverteilung im Kern eine gewisse Unsymmetrie auf, führt zu unterschiedlichen Energiewerten der drei jetzt konstitutiv verschiedenen, für die Zweitsubstitution verantwortlichen Anregungsstrukturen. Dieser Substituenten-Einfluß auf die Anregungsenergien tritt bei polycyclischen

⁹¹⁾ H. Vollmann, H. Becker, M. Corell und H. Streck, A. 531, 1 (1937).

Systemen zurück gegenüber den erheblichen Energiedifferenzen, die den möglichen Anregungsstrukturen durch die Konstitution des kondensierten Systems selbst aufgeprägt werden. Mit zunehmender energetischer Verschiedenheit der Anregungsschemata tritt der Einfluß des Substituenten schließlich völlig in den Hintergrund, mit anderen Worten, der Substituent verliert jede dirigierende Wirkung.

Beim Chinolin als einzigem Bicyclus sind Anklänge an diese Ausschaltung der Substituentenwirkung erkennbar. Die Substitution des Chinolins in den Stellungen 5 und 8 ist so bevorzugt, daß häufig eine Richtwirkung in 6 oder 7 stehender Substituenten verschwindet. So wird z. B. 6-Chlor-chinolin je nach den Bedingungen in den Stellungen 5 oder 8 nitriert⁹²⁾ und-sulfoiert⁹³⁾. 6- und 7-Nitrochinolin werden ohne Bevorzugung der Stellung 8 resp. 5 zu Gemischen weiternitriert, wobei der Eintritt der Nitrogruppe stets nebeneinander in 5 oder 8 erfolgt⁹⁴⁾.

Experimenteller Teil

Skraup-Ringschluß am 1-Methyl-naphthyl-amin-(2): 8-Methyl-6,7-benzochinolin (IIIa)

2 g reines 1-Methyl-2-acetamino-naphthalin, aus Benzol in farblosen Nadeln vom Schmp. 193° erhalten, werden mit 2 g Arsensäure, 7 g Glycerin, 7 g konz. Schwefelsäure und 5 g Eisessig 5 Stunden am Rückflußkühler zum gelinden Sieden erhitzt. Die noch heiß mit 15 cem Wasser versetzte dunkle Lösung scheidet beim Stehen über Nacht dunkle Flocken ab, von denen abgesaugt wird. Bei der Aufarbeitung mit Ammoniak-Chloroform wird von einem harzigen, in Chloroform unlöslichen Anteil abgetrennt. Die mit Wasser gewaschene Chloroformlösung hinterläßt beim Eindampfen auf dem Wasserbad einen schwarzen Rückstand, der 2 Stunden mit 8 g Essigsäureanhydrid unter Rückfluß gekocht wird. Nach dem Erkalten wird mit wässrigem Ammoniak übersättigt, in Chloroform aufgenommen, dem Chloroformextrakt mit 2n-Salzsäure der Basenanteil entzogen. Die nichtbasische Fraktion liefert 0,34 g 1-Methyl-2-acetamino-naphthalin zurück. Die salzsaure Lösung der Basenfraktion wird mit Ammoniak-Chloroform durchgeschüttelt, die Chloroformlösung nach Entfärbung an einer kurzen Aluminiumoxydsäule eingedampft. Der gelbe ölige Rückstand kristallisiert nach einigem Stehen durch: 530 mg vom Schmp. 45–50°. Beim Auskochen mit leichtsiedendem Petroläther bleiben geringe Mengen harziger Verunreinigungen zurück. Nach zweimaliger Wiederholung des Prozesses wird i. V. destilliert. Bei 200°/12 mm wird die Base als hellgelbes, sofort krist. erstarrendes Öl übergetrieben. Schmp. 53–54°. Wegen der ungemein leichten Löslichkeit in org. Solventien wird auf Umkristallisation verzichtet, das dest. Produkt zur Analyse gebracht:

$C_{14}H_{11}N$ (189,1) Ber. C 86,74 H 5,86 N 7,40
Gef. „ 87,06 „ 5,79 „ 7,00.

Reinigung ist auch möglich durch Überführen des Rohproduktes in das Pikrat, das aus viel Methanol in orangeroten triklinen Prismen vom Zersetzungspunkt 212° kristallisiert. Die Aufarbeitung der Pikratmutterlaugen zeigt, daß angulares Benzochinolin auch nicht in Spuren im Reaktionsprodukt vorhanden ist. Das bei 254°

⁹²⁾ A. Claus, J. prakt. Chem. 45, 47 (1892).

⁹³⁾ A. Claus und Schedler, J. prakt. Chem. 49, 355 (1894).

⁹⁴⁾ A. Kaufmann und Hussy, B. 41. 1735 (1908).

schmelzende, kanariengelbe Pikrat des 5,6-Benzo-chinolins ist nämlich in Methanol sehr schwer löslich.

Die Salze des lin. Benzoquinolins sind im Gegensatz zu denen des angularen Tricyclus gefärbt: Das *Chlorhydrat* wird aus Methanol in goldgelben, seidigen Nadeln erhalten; das sattgelbe *Perchlorat* ist in kaltem Wasser schwer löslich; das *Nitrat* ist orangerot. Die Acetonlösung der Base fluoresziert im UV-Licht intensiv hellblau, die salzsaure Lösung blaßgelb. Das angular Benzo-chinolin zeigt in org. Solventien eine eben wahrnehmbare blaue Fluoreszenz, in 2n-Salzsäure dagegen ein stärkeres Blau.

Lineare Anellierung bei der Knorr'schen Carbestyrylsynthese 2-Oxy-4,8-dimethyl-6,7-benzoquinolin (VIa)

2-Acetoacetamino-1-methyl-naphthalin (V) wird dargestellt nach der Methode von L. Limpach⁹⁵⁾ durch Erhitzen der Base mit fünflichem Überschuß Acetessigester auf 160°. Farblose Nadeln vom Schmp. 135°.

Cyclisierung mit konz. Salzsäure: Beim Kochen mit konz. Salzsäure scheiden sich aus der klaren Lösung Öltropfen ab, von denen nach 10 min Reaktionsdauer abgegossen wird. Der Ölteil, 15–20 % des eingesetzten Gewichts, erstarrt zu über 300° schmelzenden Kristallen, die säure- und alkalilöslich sind, nicht weiter untersucht werden. Die abgegossene Lösung erstarrt zu einem Brei farbloser Kristalle, die sich als Chlorhydrat des Methyl-naphtyl-amins erweisen. Identifikation als freie Base und als Acetylderivat.

Cyclisierung mit kalter konz. Schwefelsäure: 0,25 g des Säureamids lösen sich beim Schütteln in 2,5 cem konz. Schwefelsäure mit gelber Farbe. Nach einstündigem Stehen wird mit Eiswasser versetzt, mit Ammoniak abgestumpft und in Chloroform aufgenommen. Der gewaschene und getrocknete Auszug wird eingeeengt und mit Methanol versetzt. Nach Aufarbeitung der Mutterlauge 160 mg hellgelbe Nadeln vom Schmp. 253°. Ausbeute 70 % d. Th. Ein mehrfach aus Methanol umkristallisiertes, bei 100° i. V. getrocknetes Präparat wird analysiert:

$C_{15}H_{13}ON$ (223,11) Ber. C 80,68 H 5,87
Gef. „ 81,01 „ 6,14.

Der amphotere Charakter des Carbestyryls ist im vorliegenden linearen Tricyclus stark eingeschränkt. Unlöslich in starken wässrigen Laugen und Säuren. Nur konz. Schwefelsäure und Eisessig-Schwefelsäure nehmen den Stoff mit kräftig gelber Farbe auf. Auch die alkoholische Lösung zeigt auf Zusatz einiger Tropfen konz. wässriger Salzsäure die gelbe Salzfarbe.

Fast unzerstört sublimierbar bei Atmosphärendruck.

Die UV-Fluoreszenz ist in Methanollösung intensiv blaugrün, in konz. Schwefelsäure gelbgrün in gleicher Stärke. Das angular System, das 4-Methyl-5,6-benzocarbestyryl, fluoresziert in konz. Schwefelsäure kräftig violett, in Methanol fast gar nicht.

2-Oxy-4-methyl-8-brom-6,7-benzoquinolin (VIb)

1-Brom-2-acetoacetamino-naphthalin wird aus Brom-amino-naphthalin und Acetessigester wie oben dargestellt. Seidig glänzende, farblose Blättchen vom Schmp. 117°.

Ringschluß mit kalter konz. Schwefelsäure führt wie oben zum linearen bromhaltigen Tricyclus. Aus 350 mg werden 225 mg hellgelbe verfilzte Nadeln erhalten,

⁹⁵⁾ B. 64, 970 (1931).

die nach Umkristallisieren aus viel Methanol bei 232—234° schmelzen. Trocknen bei 100° i. V.

$C_{14}H_{10}NOBr$ (288,01) Ber. C 58,34 H 3,50 N 4,86
Gef. „ 58,76 „ 3,54 „ 5,17.

Conrad-Limpach-Synthese mit 1-Methyl-naphtyl-amin-(2): 2,8-Dimethyl-4-oxy-6,7-benzo-chinolin (IX)

Methyl-naphtylamino-crotonester (VIIb): 2 g 1-Methyl-naphtyl-amin-(2) und 1,6 g Acetessigester werden auf dem Wasserbad kurz erwärmt, bis Trübung unter Wasserabscheidung beginnt. Nach 24stündigem Stehen bei Raumtemperatur wird die erstarrte Masse aus wenig Methanol umkristallisiert. 2,5 g farblose Nadeln vom Schmp. 86—87°.

Cyclisierung. 1,5 g des subst. Crotonesters werden portionsweise eingetragen in 20 g Paraffinöl von 270°. Die sofort einsetzende Alkoholentbindung wird durch 10 Minuten Erhitzen auf 280° zu Ende geführt. Nach wenigen Minuten beginnt die Kristallisation gelber Blättchen aus der braunen Lösung. Beim Abkühlen scheiden sich dunkle schmierige Verunreinigungen aus, die beim Digerieren des scharf abgesaugten Rohprodukts mit warmem Benzol in Lösung gehen. Die gelbbraunen Kristalle werden zweimal aus Nitrobenzol, dann aus viel Äthanol umkristallisiert. Ausbeute 850 mg = 68 % d. Th. Schmp. 340° u. Z. Hellgelbe Nadeln.

$C_{15}H_{13}ON$ (223,11) Ber. C 80,68 H 5,87 N 7,90
Gef. „ 81,02 „ 6,02 „ 7,58.

Der lineare Tricyclus ist löslich in 2n-Natronlauge. In heißer wässriger 2n-Salzsäure mit gelber Farbe etwas löslich, kristallisiert in der Kälte wieder farblos aus. Konz. Schwefelsäure sowie alkoholische Salzsäure nehmen die Substanz mit gelber Farbe auf. Die Ultraviolett-Fluoreszenz der methanolischen Lösung ist kräftig blau, die der salzsauren Lösung mäßig grün, in konz. Schwefelsäure kräftig gelbgrün, in 2n-Natronlauge stark blaugrün.

5,6-Benzo-1,2,3,4-tetrahydro-carbazol (XI)

1. Aus β -Naphtylhydrazin und Cyclohexanon ist der Körper sehr leicht zugänglich, wurde von W. Borsche⁹⁶⁾ durch Cyclisierung des Hydrazons in siedender wässriger Schwefelsäure dargestellt. Es findet sich kein Hinweis auf die beispiellose Leichtigkeit des Carbazol-Ringschlusses; auch ist die Schmelzpunktangabe von 152° unzutreffend.

0,3 g reines β -Naphtylhydrazin-chlorhydrat werden in 4 ccm Methanol suspendiert. Auf Zusatz von 0,2 ccm Cyclohexanon geht das Chlorhydrat sofort in Lösung. Die mit 2,5 ccm Wasser versetzte klare Lösung ist nach 24 Stunden bei Raumtemperatur zu einem Kristallbrei erstarrt. Nach Absaugen und Trocknen 325 mg farblose Nadeln vom Schmp. 134—136°. Aus der Mutterlauge auf vorsichtigen Wasserezusatz weitere 6 mg unreineren Materials. Ausbeute 97 % d. Th. Umkristallisieren aus wenig Methanol erhöht den Schmp. auf 137°. Sehr leicht löslich in den meisten Solventien, geht i. Hochv. bei 160—180° als farbloses Öl über, das sofort kristallin erstarrt.

$C_{16}H_{15}N$ (221,13) Ber. C 86,83 H 6,84 N 6,34
Gef. „ 86,50 „ 6,68 „ 6,63.

⁹⁶⁾ A. 359, 64 (1908).

Daß tatsächlich das Tetrahydro-carbazol-Derivat vorliegt, zeigt die Stabilität gegen konz. Salzsäure bei 150° sowie die dunkle Farbe des Pikrats. Das *Pikrat* kristallisiert aus Benzol in schokoladenbraunen Nadeln vom Schmp. 192°.

Der Indolringschluß wird durch Überschuß an Säure stark beschleunigt: 1 g β -Naphthyl-hydrazin werden in 15 ccm Methanol kalt gelöst und mit 0,75 ccm Cyclohexanon versetzt. Nach einer halben Minute werden 10 ccm 2n-Salzsäure (wäbrig) zugegeben, worauf nach wenigen Sekunden die Kristallisation des Cyclisierungsproduktes einsetzt. Nach zwei Stunden haben sich 1,37 g ausgeschieden = 97 % d. Th.

2. Aus 1-Methyl-naphthyl-hydrazin-(2) durch Methylverdrängung. *1-Methyl-naphthyl-hydrazin*-(2). Um die Möglichkeit einer Verunreinigung durch β -Naphthyl-hydrazin auszuschalten, war Reinheit besonders wichtig. 1-Methyl-2-acetaminonaphthalin wird aus Methanol, in dem Acet- β -naphthalid sehr leicht löslich ist, bis zur Schmelzpunktkonstanz bei 193° umkristallisiert, dann mit alkoholischer Salzsäure verseift. 3,5 g feinkristallines Chlorhydrat des 1-Methyl-naphthylamins-(2) werden in 25 ccm 7n-Salzsäure suspendiert und mit 1,34 g Natriumnitrit in 8 ccm Wasser bei 0° diazotiert, wobei das Chlorhydrat schnell in Lösung geht. Nach halbstündigem Stehen wird geringer Überschuß salpetriger Säure mit Harnstoff zerstört und in Lösung von 12 g Zinnchlorür in 8 ccm Salzsäure und 110 ccm Wasser eingegossen. Sofort kristallisiert das farblose, zinnfreie Chlorhydrat aus, das in heißem Wasser gelöst zur Reinigung wieder mit Salzsäure ausgefällt wird. Speckig glänzende Blättchen, die sich gegen 195° zersetzen. Ausbeute nahezu quantitativ.

Die heiße wäßrige Lösung trübt sich auf Acetonzusatz sofort; beim Anreiben kristallisiert das Hydrazon in farblosen, bei 99° schmelzenden Blättchen. Aus der wäßrigen Lösung des Chlorhydrats beginnt schon auf Natriumacetat-Zusatz hin die Kristallisation der freien Hydrazinbase, die aus Methanol zu farblosen Nadeln vom Schmp. 110° umgelöst werden kann. Die Base reduziert kräftig Fehlingsche Lösung, zeigt den charakteristischen Arylhydrazingeruch und färbt sich beim Stehen an der Luft rotbraun.

Cyclisierung. 0,85 g 1-Methyl-naphthyl-hydrazin-(2)-chlorhydrat werden mit 2 ccm Eisessig und 1 ccm Cyclohexanon unter Zusatz von 20 mg wasserfreiem Nickelchlorür im Einschlußrohr innerhalb 2 Stunden auf 180° erhitzt. Innerhalb weiterer 2 Stunden wird die Temperatur auf 200° gesteigert und noch 3 Stunden gehalten. Beim Erkalten scheidet der dunkelbraune Rohrinhalt Kristalle vom Ammoniumchlorid aus. Das Cyclohexanon wird mit Wasserdampf abgeblasen, das ausgeschiedene braune Harz in Chloroform aufgenommen, die Chloroformlösung mit 2n-Salzsäure, mit Natronlauge, mit starker Bisulfitlösung, schließlich mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet. Nach Vorreinigung an Aluminiumoxyd wird das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand aus einer kleinen Retorte i. Hochv. destilliert. Nach einem kurzen Vorlauf von Cyclohexanon geht zwischen 160 und 260° ein orangerotes Öl über, das lackartig erstarrt, 418 mg. Nach Aufnehmen in 3 ccm Benzol wird mit benzolischer Pikrinsäure versetzt, worauf 130 mg schwarzbraunes Pikrat vom Schmp. 188—190° auskristallisieren, entsprechend 7,5 % d. Th., auf Methyl-naphthyl-hydrazin bezogen. Das Pikrat wird mit Natronlauge-Chloroform aufgearbeitet, das Benzotetrahydrocarbazol i. Hochv. destilliert. 60 mg kristallin erstarrendes Öl, das aus wenig Methanol umkristallisiert wird zu farblosen Nadeln vom Schmp. 137°. Keine Schmelzpunktniedrigung mit dem aus

Naphtyl-hydrazin erhaltenen Produkt. Zur Analyse wird bei 100° i. V. getrocknet:

$C_{16}H_{13}N$ (221,13) Ber. C 86,83 H 6,84 N 6,34
Gef.: „ 86,24 „ 6,68 „ 6,53.

In siedendem Cyclohexanon-Eisessig findet noch keine Methylverdrängung statt.

Die Skraupsche Chinolin-Synthese mit 6-Nitro-3-amino-toluol

135 g 6-Nitro-3-amino-toluol werden mit 125 g Arsensäure, 270 g wasserfreiem Glycerin und 250 g konz. Schwefelsäure zu einem homogenen Brei verrührt und am Steigrohr mit fächelnder Flamme vorsichtig zum Reaktionseintritt erhitzt. Nach Abklingen der unter starkem Schäumen vor sich gehenden Reaktion wird noch 6 Stunden zum gelinden Sieden erhitzt. Nach dem Versetzen mit dem dreifachen Volumen Wasser läßt man über Nacht stehen, filtriert von dunklen Schmieren ab und macht ammoniakalisch. Das nach kurzem Rühren durchkristallisierende Nitro-methyl-chinolin wird zur Reinigung in 2n-salzsaurer Lösung 2 Stunden mit Tierkohle gekocht. Der mit Ammoniak abgeschiedene Nitrokörper wird zur Abtrennung nicht umgesetzten Amins mit Essigsäureanhydrid aufgekocht, der Überschuß i. V. abgedampft, der Rückstand mit warmer 2n-Salzsäure durchgearbeitet. Nach Filtrieren und Versetzen mit Ammoniak wird in Chloroform aufgenommen, die getrocknete Lösung an Aluminiumoxyd gereinigt und eingengt. Aus Methanol 108 g Kristalle vom Schmp. 120—150°, entsprechend 65% d. Th. Es liegt ein schwer trennbares Gemisch von ca. 65% 6-Nitro-7-methyl- und 35% 6-Nitro-5-methyl-chinolin vor.

108 g Nitrobasengemisch wird aus 1,3 l Methanol umkristallisiert. Die 40 g umfassende Spitzerfraktion wird aus 1,5 l siedendem Aceton umgelöst, die erste Fraktion wieder aus 300 ccm Aceton umkristallisiert: 11,4 g fast reines 6-Nitro-5-methyl-chinolin. Da fraktionierte Kristallisation der Mutterlauge ergebnislos war, wird das 6-Nitro-5-methyl-chinolin mit Alkali in das sehr schwerlösliche dimere Produkt übergeführt (siehe weiter unten). Das beim Eindampfen der Mutterlauge erhaltene Gemisch wird in 350 ccm Methanol mit 180 ccm 20proz. methylalkoholischer Kalilauge unter ständigem Schütteln 40 min zum gelinden Sieden erhitzt. Nach Zufügen weiterer 700 ccm siedendem Methanol wird heiß von 21 g Alkaliumwandlungsprodukt abgesaugt, mit heißem Methanol nachgewaschen. Das Filtrat liefert beim Erkalten und weiterem Einengen 54 g reines 6-Nitro-7-methyl-chinolin.

6-Nitro-5-methyl-chinolin (XXXIV) kristallisiert aus Methanol oder Aceton in farblosen Nadeln vom Schmp. 165°. Farbloses Chlorhydrat. Zur Analyse gelangt ein bei 100° i. V. getrocknetes Präparat.

$C_{10}H_8O_2N_2$ (188,08) Ber. C 63,80 H 4,25 N 14,90
Gef.: „ 64,46 „ 4,44 „ 14,55.

Die Konstitution wird bewiesen durch Überführung in Chinolin-5-carbonsäure:

6-Amino-5-methyl-chinolin wird durch Reduktion des Nitrokörpers mit Zinnchlorür in halbkonz. Salzsäure gewonnen. Aus Benzol farblose derbe Prismen, die bei 163—164° schmelzen. Gelbes Monochlorhydrat. Acetylderivat Schmp. 168°.

$C_{10}H_{10}N_2$ (188,08) Ber. C 75,90 H 6,38
Gef.: „ 76,00 „ 6,71.

5-Methyl-chinolin. 1,3 g 6-Amino-5-methyl-chinolin werden in 10 ccm Eisessig gelöst und mit 0,7 g Natriumnitrit in 12 ccm konz. Schwefelsäure diazotiert. Die Diazoniumlösung wird unter starker Kühlung eingegossen in die äthanolische Suspension von Kupferoxydul. Nach Beendigung der N_2 -Entwicklung wird abfiltriert, mit Wasser versetzt, das org. Lösungsmittel verkocht und mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet. Bei 260—265° Metallbadtemperatur geht bei normalem Druck

das Methyl-chinolin als hellgelbes Öl über, das durch Aufnehmen in Petroläther von einem nicht näher untersuchten krist. Anteil befreit wird. Das Pikrat schmilzt nach Umkristallisieren aus Alkohol bei 213—215°. Nach Skraup und Brunner⁹⁷⁾ Schmp. 210—213°.

Chinolin-5-carbonsäure. 0,43 g Methylchinolin werden mit 0,65 g Chromsäure und 4 cem 35proz. Schwefelsäure 10 Stunden im Einschlußrohr auf 150° erhitzt. Aufarbeitung in Anlehnung an Z. Jacobowski⁹⁸⁾. Nach Umkristallisieren aus Eisessig schmilzt die Chinolincarbonsäure bei 330°. Literaturangabe 338—340°. Die Chinolin-5-carbonsäure ist die einzige, oberhalb 300° schmelzende Monocarbonsäure des Chinolins.

6-Nitro-7-methyl-chinolin (XXXVIII) kristallisiert aus Alkohol in langen farblosen Nadeln vom Schmp. 140°. Farbloses Chlorhydrat.

$C_{10}H_8O_2N_2$ (188,08) Ber. C 63,80 II 4,25
Gef. „ 63,95 „ 4,09.

- Konstitutionsbeweis durch Überführung in Chinolin-7-carbonsäure

6-Amino-7-methyl-chinolin. 3 g Nitrokörper werden mit Lösung von 12 g Zinnchlorür in 27 cem halbkonz. Salzsäure übergossen, wobei der Nitrokörper unter Selbst-erwärmung in Lösung geht. Beim anschließenden halbstündigen Erwärmen auf dem Wasserbad beginnt die Ausscheidung des schwer löslichen Chlorostannats, das nach dem Erkalten abgesaugt, in heißem Wasser gelöst und mit H_2S vom Zinn befreit wird. Ammoniak scheidet die Base farblos und rein ab. Aus Benzol farblose zarte Tafeln, die bei 139° schmelzen.

7-Methyl-chinolin wird bei der Desaminierung wie oben erhalten. 0,5 g Methylchinolin aus 1,6 g Aminbase. Pikrat aus Alkohol in gelben Nadeln vom Schmp. 235°. In Schmp. und Mischschmp. identisch mit dem Pikrat eines aus m-Toluidin hergestellten Vergleichspräparats von 7-Methyl-chinolin.

Chinolin-7-carbonsäure durch Oxydation des 7-Methyl-chinolins nach Skraup und Brunner⁹⁹⁾ und Reinigung über das Kupfersalz. Schmp. 245°, nach der Literatur 247°.

Die Reaktion von Nitro-methyl-chinolinen mit methylalkoholischer Kalilauge

1,2-Di-(6-nitro-chinoly-5-)-äthan (XXXV). 1,0 g reines 6-Nitro-5-methyl-chinolin wird mit 12 cem 10proz. methylalkoholischer Kalilauge auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt. Innerhalb weniger Sekunden geht die Nitrobase in Lösung und die Flüssigkeit erstarrt zu einem Brei feiner verfilzter Nadeln. Unter Umschütteln vorsichtig 3 Minuten kochen. Nach dem Erkalten wird abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet. 0,79 g bei 278° schmelzendes Rohprodukt. Umkristallisieren aus siedendem Eisessig führt zu prachtvollen, farblosen Nadeln, die bei 300° unter Zers. schmelzen. Zur Analyse gelangt ein mehrfach aus Pyridin umkristallisiertes, bei 100° i. V. getrocknetes Präparat.

$C_{20}H_{14}N_4O_4$ (374,16) Ber. C 64,15 II 3,77 N 14,98
Gef. „ 64,24 „ 3,73 „ 14,69.

Im Hochvakuum bei 220—240° sublimierbar. Das reduzierte Produkt des Redoxvorgangs kann aus der alkoholisch-alkalischen Mutterlauge nicht kristallisiert erhalten werden.

⁹⁷⁾ Mh. 7, 141 (1886).

⁹⁸⁾ B. 43, 3026 (1910).

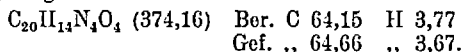
Die Bildung des beschriebenen Körpers wird auch noch in viel verdünnterer methanolischer Lauge, selbst in 2n-Natronlauge und alkalischer Arsenitlösung beobachtet.

Die Reduktion mit Zinnchlorür in Salzsäure führt zum *Diamin*, das aus Benzol zu blaß grüngelben Nadelchen umgelöst wird.



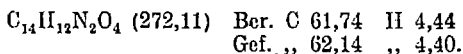
1,2-Di-(6-nitro-8-methyl-chinoly-5)-äthan. 0,5 g 6-Nitro-5,8-dimethyl-chinolin werden in analoger Weise mit methylalkoholischer Kalilauge behandelt. Ausscheidung voluminöser Massen feiner Nadelchen. Umkristallisieren aus Pyridin oder Eisessig führt zu nahezu farblosen Nadeln vom Schmp. 257°.

1,2-Di-(5-nitro-chinoly-8)-äthan. Schon E. Nölting und E. Trautmann⁹⁹⁾ konstatierten die Alkaliempfindlichkeit des 5-Nitro-8-methyl-chinolins. Das amorphe Endprodukt setzen sie in Parallele zum polymeren Azoxystilben aus p-Nitrotoluol nach Klinger¹⁰⁰⁾. Es gelingt, die erste Stufe der Reaktion zu fassen: 1 g 5-Nitro-8-methyl-chinolin werden mit 20 ccm 10proz. methanolischer Kalilauge bei 40° geschüttelt. Aus der zuerst roten, dann gelbbraunen Lösung kristallisiert eine Substanz, die aus wenig Eisessig oder viel Benzol umgelöst wird zu farblosen Nadeln vom Schmp. 221°. Ausbeute 0,585 g.



Bei weiterer Alkalibehandlung intensive Violettfröbung.

o,o'-Dinitro-dibenzyl erhielt A. Reissert¹⁰¹⁾ in Spuren bei der Einwirkung von Natriumäthylat und wenig Oxalester auf o-Nitro-toluol. In einer Menge von 25–30 % d. Th. entsteht die Substanz unter folgenden Bedingungen: o-Nitrotoluol, in der vierfachen Menge abs. Äther gelöst, wird zur sorgfältig gekühlten Suspension der äquimolaren Menge alkoholfreien Kaliumäthylats in abs. Äther hinzugegeben. Nach Stehen über Nacht wird mit Wasser durchgeschüttelt, die Ätherphase getrocknet, an Aluminiumoxyd gereinigt und eingeengt. Aus Methanol farblose Nadeln vom Schmp. 122°.



Reaktion von 6-Nitro-chinolin und Derivaten mit Natrium-methylat

Reaktion von 6-Nitro-chinolin zum „Azoxy-dichinyl“ wurde von C. Kneuppel⁶⁾ beschrieben. Es handelt sich um das o-Diazin-derivat, das in Analogie zum Phenazon als *Chinazon-N-oxyd* (XXXIXa) bezeichnet werden kann und bei sorgfältigem Arbeiten in 80 % Ausbeute erhalten werden kann. Die dritte und vierte Kristallisation sind häufig mit dunklen Schmierern verunreinigt, die mit heißem Toluol herausgelöst werden können. Umkristallisierbar aus viel Eisessig zu prachtvollen, sattgelben Nadeln, die sich oberhalb 320° verfärben, bei 330° sich zersetzen. Rotes, aus heißem Wasser umkristallisierbares *Chlorhydrat*.

Den Angaben Kneuppels folgend wird das N-Oxyd durch Destillation über Eisenpulver in den sauerstoff-freien Grundkörper, das *Chinazon* übergeführt, das gegen 400° unzersetzt sublimiert. Reinigung durch Heißeextraktion mit Benzol aus der Hülse. Bläugelbe Blättchen vom Schmp. 369°.



⁹⁹⁾ B. 23, 3673 (1890).

¹⁰⁰⁾ B. 16, 941 (1883); Bender und Schultz, B. 11, 3234 (1886).

¹⁰¹⁾ B. 30, 1036 (1897).

Farblos löslich in verd. Salzsäure. Mit Zinkstaub in kalter verd. salzsaurer Lösung Reduktion zum blaugrünen semichinon-artigen Körper, der mit Permanganat wieder autoxydiert wird zum Chinazon. Mit Zinkstaub in der Wärme komplizierteres Farbenspiel, mit der Einbeziehung der Pyridinkerne in die Reduktion deuthar.

Reaktion des 6-Nitro-7-methyl-chinolins zu XXXIX b. 1 g Nitrobase werden mit Methyllösung aus 1 g Natrium in 10 ccm Methanol zum Sieden erhitzt. Nach dreistündigem Kochen saugt man das dunkle amorphe Reaktionsprodukt ab, wäscht mit kaltem Eisessig aus. Aus heißem Eisessig gelbe Nadeln, die bei 355° u. Zers. schmelzen. Ausbeute 30 % d. Th. Destillation über Eisenpulver führt wie oben zum sauerstoff-freien Körper, dem Dimethyl-chinazon, das aus viel Xylol umkristallisiert wird zu blaßgelben Spießen, die ohne Zers. bei 380° schmelzen.

$C_{20}H_{14}N_4$ (310,14) Ber. C 77,38 H 4,55
Gef. „ 77,44 „ 4,69.

Die Reaktion des 6-Nitro-7,8-dimethyl-chinolins wird wie oben vorgenommen. Das Tetramethyl-chinazon-N-oxyd wird aus Nitrobenzol umkristallisiert zu gelbgrünen Nadeln, die sich oberhalb 330° zersetzen. Über Eisenpulver destilliert, schmelzen die blaßgelben Nadeln des Tetramethyl-chinazons bei 354°.

Reaktion des 6-Nitro-chinolins mit Kaliumcyanid in Alkohol

5-Cyan-6-äthoxy-chinolin. 1 g 6-Nitrochinolin wird mit 0,5 g Kaliumcyanid in 15 ccm 96proz. Äthanol und 3 ccm Wasser unter Zusatz von 0,5 ccm 2n-Kalilauge 4 Stunden auf dem Wasserbad unter Rückfluß gekocht. Aus der kalten, braunen Lösung kristallisieren auf Wasserzusatz 0,5 g Nadeln, die mehrfach aus Methanol umgelöst werden zu farblosen, glänzenden Spießen vom Schmp. 130°. Resistent gegen salpetrige Säure, kochende konz. Salzsäure, kalte konz. Schwefelsäure. Die Chinolinbase ist bei gew. Druck unter geringer Zers. destillierbar. Sulfat und Chlorhydrat sind farblos und schwer löslich in Wasser.

$C_{12}H_{10}N_2O$ (198,10) Ber. C 72,69 H 5,09 N 14,14
Gef. „ 72,72 „ 4,87 „ 13,99.

5-Cyan-6-methoxy-chinolin. Entsprechende Umsetzung mit KCN in Methanol, wobei aus 2 g 6-Nitro-chinolin 1,5 g verfilzte blaßgelbe Nadeln erhalten werden. Beim Umlösen aus Methanol bleiben körnige Kristalle zurück, die sich gegen 260° zersetzen und nicht weiter untersucht werden. Aus Methanol Nadeln vom Schmp. 179°.

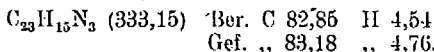
$C_{11}H_9N_2O$ (184,08) Ber. C 71,71 H 4,38 N 15,22
Gef. „ 72,10 „ 4,25 „ 14,63.

5-Amino-6-nitro-chinolin

5 g 6-Nitro-chinolin werden unter Zusatz von 6 g Hydroxylamin-chlorhydrat in 90 ccm 96proz. Alkohol heiß gelöst, unter Schütteln erkalten gelassen, um das schwer lösliche Nitrochinolin recht feinkristallin zur Abscheidung zu bringen. Bei Raumtemperatur werden auf einmal 30 ccm 20proz. methylalkoholische Kalilauge zugegeben. Kaliumchlorid scheidet sich aus, das 6-Nitro-chinolin geht nach kurzem Schütteln mit gelber Farbe in Lösung, wobei die Temperatur in wenigen Minuten um 20° steigt. Als bald beginnt die Ausscheidung des Amino-nitro-chinolins, die Lösung in einen Kristallbrei verwandelnd. Mit 250 ccm lauwarmem Wasser durchschütteln, absaugen, trocknen: 5,2 g = 94 % d. Th. Aus viel Äthanol in seidigen, sattgelben Nadeln vom Schmp. 272°. Das gelbe Chlorhydrat ist schwer löslich in Wasser.

5,6-Diamino-chinolin. 1 g 6-Nitro-5-amino-chinolin mit 4 g Zinnchlorür in 14 ccm 5n-Salzsäure versetzen. Das sich zunächst ausscheidende rotbraune Chlorostannit löst sich beim mehrstündigen Erwärmen auf dem Wasserbad. Das beim Abkühlen erhaltene Chlorostannat des Diamins wird in 120 ccm frisch ausgekochtem Wasser gelöst und mit H_2S entzint. Beim Eindampfen i. V. wird das Chlorhydrat des Diamins in blaßgelben Kristallkrusten erhalten. Die freie Base ist äußerst autoxydabel.

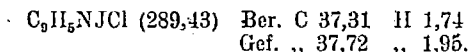
Chinoxalin-Bildung mit Benzil. 0,1 g Diamino-chinolin-chlorhydrat und 0,12 g Benzil werden in 5 ccm Alkohol unter Zusatz von etwas Natriumacetat aufgekocht. Zarte farblose Tafeln, die nach Umkristallisieren aus Benzol bei 205° schmelzen. Ausbeute 88 mg.



Mit Acetanhydrid ein farbloses Diacetylderivat vom Schmp. 252°, das beim Schmelzpunkt Essigsäure abgespalten unter Bildung des *5,6-(Methyl-imidazo)-chinolins*, das einfacher wie folgt erhalten wird: 0,5 g 6-Nitro-5-amino-chinolin werden in 5 ccm siedendem Eisessig gelöst und mit 2,1 g Zinnchlorür in 4 ccm konz. Salzsäure versetzt. Die braunroten Kristalle des Zinndoppelsalzes werden bei mehrstündigem Erhitzen auf 100° rein gelb. Sie werden in heißem Wasser mit H_2S vom Zinn befreit, das Filtrat eingeeengt, mit Ammoniak versetzt, nach Aufkochen mit Tierkohle zur Trockne gebracht. Aus dem Kristallrückstand wird die Imidazol-Base mit Aceton ausgezogen. Schmp. 200°. Aus wenig Wasser kristallisiert ein bei 70° schmelzendes Hydrat.

5,6-Imidazo-chinolin wird analog durch Reduktion von 6-Nitro-5-amino-chinolin in Gegenwart von Ameisensäure erhalten als bei 78° schmelzendes Hydrat. Umlösen aus Benzol führt zur wasserfreien Form vom Schmp. 214°, die sich beim Stehen an der Luft hydratisiert.

5-Iod-6-chlor-chinolin. 10,2 g 5-Amino-6-nitro-chinolin werden mit 75 ccm warmer Salzsäure übergossen, bei 0° mit Lösung von 4,2 g Natriumnitrit in 10 ccm Wasser diazotiert, wobei das Chlorhydrat im Laufe von 2–3 Stunden in Lösung geht. Nach Versetzen mit 50 ccm Wasser wird mit Harnstoff vom Überschuß salpetriger Säure befreit. Beim portionsweisen Zusatz von 10 g Kaliumjodid in 10 ccm Wasser setzt kräftige Stickstoffentwicklung ein, die durch Zusatz von Cu-Bronze vervollständigt wird. Das abgeschiedene zähe, dunkle Harz wird mit Salzsäure durchgекnetet, im Scheidetrichter mit Ammoniak und 180 ccm Chloroform durchgeschüttelt. Der mit Sulfidlösung und mit Wasser gewaschene und getrocknete Extrakt wird an Aluminiumoxyd gereinigt und eingedampft. Aus Methanol 4,9 g rote Nadeln, die nach häufigem Umlösen aus Methanol, dann aus Benzol farblos werden und bei 136° schmelzen. Ausbeute 28 % d. Th. Beim Erwärmen mit konz. Schwefelsäure wird Jod abgespalten.



Die Entjodung mit Kupferbronze in siedendem Nitrobenzol liefert das 6,6-Dichlor-5,5-dichinolyl in glasklaren Polyedern vom Schmp. 205°. Mit Jodwasserstoffsäure in Eisessig wird das Jod reduktiv entfernt, farblose Nadeln vom Schmp. 40–41° erhalten, identisch in Schmp. und Mischschmp. mit 6-Chlor-chinolin.

Skraup-Ringschluß mit 5-Nitro-6-amino-chinolin

0,5 g Nitrobase¹⁰²⁾ werden mit 0,4 g Arsensäure und je 4 g Glycerin, konz. Schwefelsäure und Eisessig wie üblich zur Reaktion gebracht. Die Aufarbeitung liefert 115 mg reines p-Phenanthrolin, entsprechend 22 % d. Th. Reinigung durch Hochvakuumdestillation. Aus Benzol farblose Polyeder vom Schmp. 174°.

Die Reaktion mit 5-Brom-6-amino-chinolin liefert in analoger Weise unter Substituentenverdrängung p-Phenanthrolin in einer Ausbeute von 65 % d. Th.

Skraup-Ringschluß mit 5-Methyl-6-amino-chinolin 10-Methyl-1,5-anthrazolin (XLII)

In einer Serie von Vorversuchen wurden Ansatz und Aufarbeitung variiert. Folgende Bedingungen sind optimal:

¹⁰²⁾ A. Kaufmann und O. Zeller, B. 50, 1626 (1917).

1 g reines 6-Acetamino-5-methyl-chinolin werden mit 0,9 g Arsen-säure, 6 g wasserfreiem Glycerin, 6 g konz. Schwefelsäure und 5 g Eis-essig 10—12 Stunden zum gelinden Sieden erhitzt. Die mit Wasser ver-setzte dunkle Lösung wird im Scheidetrichter mit Chloroform unter-schichtet und unter energischem Schütteln ammoniakalisch gemacht. Unbeschadet einer Harzausscheidung werden der rotbraunen Chloro-formlösung mit 2n-Salzsäure die basischen Anteile entzogen, der saure Extrakt wieder mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet. Die an Alu-miniumoxyd gereinigte getrocknete Chloroformlösung hinterläßt einen Abdampfrückstand, der in 3 ccm Pyridin gelöst und zur Entfernung von etwas nicht umgesetztem 6-Amino-5-methyl-chinolin mit 200 mg p-Toluol-sulfochlorid kurz aufgeköcht wird. Nach Versetzen mit Wasser und Natronlauge wird mit Chloroform durchgeschüttelt, die Chloro-formlösung eingedampft, im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure vom Pyridin befreit. Es wird erneut in Chloroform gelöst, zur Reinigung noch einmal in Salzsäure eingeschüttelt, nach Ammoniakzusatz wieder in Chloroform gebracht. Von den letzten färbenden Verunreinigungen wird durch Passieren einer kleinen Aluminiumoxydsäule befreit. Der Eindampfrückstand wird aus einem Mikrodestillationskölbchen im Wasserstrahlvakuum übergetrieben. Bei 180° Badtemperatur subli-miert eine kleine Menge Kristalle, die nicht weiter beachtet werden. Die Hauptfraktion geht bei 200—220° als gelbbraunes, bald kristallin erstarrendes Öl über. Durch Temperatursteigerung auf 235° wird noch eine kleine Menge roten Öls übergetrieben. Alle drei Fraktionen wiegen zusammen 24 mg. Die etwa $\frac{3}{4}$ ausmachende Mittelfraktion, die das stark fluoreszierende Reaktionsprodukt enthält, wird in heißem Wasser gelöst, mit Tierkohle aufgeköcht. Beim Erkalten 12 mg farblose Nadeln. Der Schmp. von 62° ist der des Hydrats, das bei 100° entwässert werden kann. Wie bei den Phenanthrolinen ist auch hier die kristallwasser-haltige Form die luftbeständige. Die noch einmal aus 6 ccm Wasser umkristallisierten verfilzten, seidigen Nadelchen werden lufttrocken ver-brannt.

3,221 mg Subst., 7,457 mg CO₂, 1,860 mg H₂O; 3,050 mg Subst., 0,323 ccm N₂ bei 21°/718 mm.

C₁₅H₁₀N₂ · 3 H₂O Ber. C 62,87 H 6,50 N 11,29
Gef. „ 63,29 „ 6,46 „ 11,61.

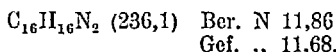
Das Anthrazolin-Derivat löst sich gelb in Säuren. Während p-Phenanthrolin im UV-Licht eine kaum wahrnehmbare Fluoreszenz zeigt, weist der Vertreter des linearen Gerüsts eine intensive blaulila UV-Fluoreszenz auf.

8-Methyl-10,11-tetramethylen-5,6(N)-pyrrochinolin (XLVI)

1. Aus 6-Hydrazino-8-methyl-chinolin und Cyclohexanon

Der Indolringschluß erfolgt außerordentlich leicht mit verschiedenen, auch schon milden Kondensationsmitteln.

Mit Eisessig. 0,5 g 6-Hydrazino-8-methyl-chinolin¹⁰³) (freie Base) werden mit 3 ccm Eisessig und 1,5 ccm Cyclohexanon 6 Stunden gekocht, dann i. V. eingengt, der Rückstand bei 40° mit Ammoniak-Chloroform digeriert. Der Chloroformlösung wird mit 2n-Schwefelsäure der basische Anteil entzogen, der saure Auszug nach Versetzen mit Ammoniak erneut mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach Passieren einer Aluminiumoxydsäule wird das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand mit Alkohol angerieben: 0,51 g Kristalle, die nach Umlösen aus Alkohol bei 225–226° schmelzen. Ausbeute 70% d. Th. Die Verwendung des Hydrazin-chlorhydrats steigert die Ausbeute.



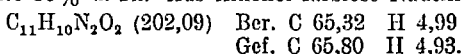
Mit Nickelchlorid. Das Cyclohexanonhydrazon wird aus Methanol in blaßgelben Kristallen vom Schmp. 189° erhalten. 330 mg Hydrazon werden mit 15 mg wasserfreiem Nickelchlorür im Reagensglas im Metallbad erhitzt. Bei 200° Reaktion unter Ammoniakentwicklung. Nach kurzem Erhitzen bis 240° läßt man erkalten, nimmt in trockenem Chloroform auf, entfärbt an Tonerde, engt ein und versetzt mit Alkohol. 230 mg vom Schmp. 225°, entsprechend 75% d. Th.

Mit 2n-Schwefelsäure. 265 mg Hydrazon werden mit 4 ccm 2n-Schwefelsäure kurz aufgeköcht und eine halbe Stunde auf siedendem Wasserbad belassen. Aufarbeitung mit Alkali-Chloroform liefert 85 mg Pyrrochinolinbase = 34% d. Th.

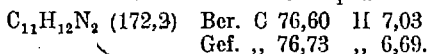
2. Aus 6-Hydrazino-5,8-dimethyl-chinolin und Cyclohexanon unter Methylabspregung

p-Nitro-p-xylydin. 20 g p-Xylydin werden in 140 ccm Schwefelsäure gelöst und unter 0° tropfenweise unter Turbinieren mit 11,5 ccm Salpetersäure $d = 1,4$ in 30 ccm Schwefelsäure versetzt. Beim Verdünnen mit dem gleichen Volumen Eiswasser kristallisiert das farblose Sulfat der Nitrobase aus, das mit 70proz. Schwefelsäure gewaschen und mit viel heißem Wasser zerlegt wird. 13,5 g schmelzpunktreines p-Nitro-p-xylydin. Aus der sauren Mutterlauge mit Ammoniak weitere 5,5 g Rohmaterial, die aus Methanol umkristallisiert werden.

6-Nitro-5,8-dimethyl-chinolin. 56 g Nitrobase, 47 g Arsensäure, 98 g entwässertes Glycerin und 90 g konz. Schwefelsäure werden der Skraup-Reaktion unterworfen, die hier durch mindestens achtstündiges Kochen zu Ende geführt wird. Aufarbeitung wie S. 139. Ausbeute 50% d. Th. Aus Alkohol farblose Nadeln vom Schmp. 118°.



6-Amino-5,8-dimethyl-chinolin. Die Reduktion des Nitrokörpers mit Zinnchlorür erfolgt viel langsamer als die des 6-Nitro-chinolins, wo sie unter Selbsterwärmung vonstatten geht. 22 g Nitrobase werden feingepulvert und in die siedende Lösung von 86 g Zinnchlorür-dihydrat in 170 ccm halbkonz. Salzsäure unter Schütteln eingetragen. Nach dreistündigem Kochen wird die klare Lösung noch heiß in überschüssige 30proz. Natronlauge eingegossen, nach dem Erkalten abgesaugt, noch einmal in verdünnter Salzsäure gelöst und mit starkem Alkali ausgefällt. Reinigung durch Destillation im Sabelkobben, wobei das Amin bei 194°/12 mm übergeht. Aus Äthanol farblose prismatische Stäbchen vom Schmp. 175°. Gelbes Chlorhydrat.



6-Hydrazino-5,8-dimethyl-chinolin. 6 g reines Amin¹⁰⁴) werden in 75 ccm 7n-Salzsäure gelöst und mit 2,4 g Natriumnitrit in 25 ccm Wasser bei 0° diazotiert.

¹⁰³) Darstellung wird demnächst in anderem Zusammenhang veröffentlicht.

¹⁰⁴) Abwesenheit von 6-Amino-8-methyl-chinolin ist wichtig. Das letztgenannte Amin ist in Methanol und Äthanol ca. 10mal leichter löslich und schmilzt bei 125°. Eine Verunreinigung des bis zur Schmelzpunkt Konstanz umkristallisierten 6-Amino-5,8-dimethyl-chinolins durch den 6-Amino-8-methyl-körper ist also nicht möglich.

Das beim Eingießen in die Lösung von 20 g Zinnchlorür in 250 ccm n/10-Salzsäure zunächst ausfallende Stanno-Doppelsalz geht schnell in Lösung. Nach wenigen Minuten beginnt die Ausscheidung des Hydrazin-chlorostannats in derben gelben Kristallen. Nach zweistündigem Stehen wird abgesaugt, in 200 ccm heißem Wasser gelöst und mit H_2S von Stanni-Ionen befreit. Beim Einengen i. V. auf kleines Volumen kristallisiert das in Salzsäure schwerlösliche Chlorhydrat in gelben Nadeln. Ausbeute 85 % d. Th. Die freie Hydrazinbase wird aus Methanol-Wasser in farblosen Tafeln vom Schmp. 185° erhalten, die sich beim Stehen an der Luft verfärben.

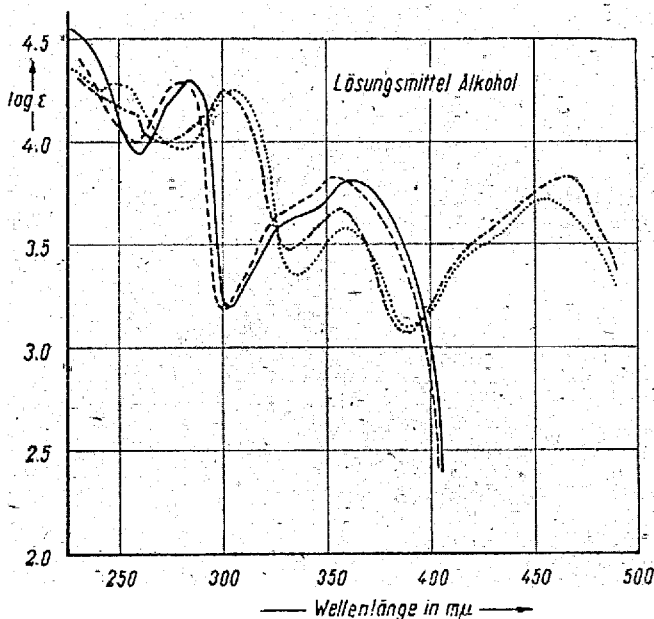
$\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3$ (187.1) Ber. N 22.46

Gef. „ 21.52.

Indolringschluß mit Cyclohexanon. 1 g feingepulvertes Chlorhydrat des Hydrazin-körpers wird mit 4 ccm Cyclohexanon und 2 ccm Eisessig am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt. Das zunächst auskristallisierende, heftiges Stoßen verursachende Cyclohexanon-hydrazon-chlorhydrat geht innerhalb mehrstündigem gelinden Siedens in Lösung. Nach 14stündigem Kochen haben sich aus der braunschwarzen Lösung Kristalle abgeschieden, die nach Erkalten abgesaugt und mit wenig Eisessig gewaschen werden. Das rote Kristallisat wird mit Alkali-Chloroform zerlegt, die Chloroformlösung an Al_2O_3 entfärbt und eingengt. Aus Methanol 154 mg farblose Nadeln vom Schmp. 225° . Aufarbeitung der Eisessig-Cyclohexanon-Mutterlauge liefert weitere 84 mg der gleichen Substanz. In Säuren gelbe Lösung.

$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2$ (236.2) Ber. C 81.29 H 6.83 N 11.86

Gef. „ 81.46 „ 6.86 „ 11.79.



8-Methyl-10,11-tetramethylen-5,6 (N)-pyrrochinolin:

————— Base Chlorhydrat

7,8-Dimethyl-10,11-tetramethylen-5,6 (N)-pyrrochinolin:

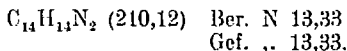
..... Base Chlorhydrat

Die Identität mit 8-Methyl-10,11-tetramethylen-5,6(N)-pyrrochinolin ergibt sich aus Übereinstimmung in Schmp. und Mischschmp. mit dem oben aus 6-Hydrazino-8-methyl-chinolin dargestellten Präparat. Die Präparate beider Synthesewege stimmen im UV-Absorptionsspektrum¹⁰⁵ völlig überein und zeigen große Ähnlichkeit mit der Kurve des sicher angular anellierten 7,8-Dimethyl-10,11-tetramethylen-5,6(N)-pyrrochinolins (Fig. 2). Ausbeute an unter Methylverdrängung gebildetem Tetrahydro-carbazol-Derivat 30% d. Th. Das freie 6-Hydrazino-5,8-dimethyl-chinolin liefert mit Cyclohexanon in Eisessig den Ihdolkörper nicht, im Gegensatz zu den normalen angularen Pyrrochinolinsynthesen. Anwesenheit von Mineralsäure ist also für die Methylabstoßung erforderlich.

8,10,11-Trimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin

1. Aus 6-Hydrazino-8-methyl-chinolin und Methyl-äthyl-keton

Das Chlorhydrat des Hydrazinkörpers wird mit Methyl-äthyl-keton und Eisessig einige Stunden gekocht. Das ausgeschiedene Chlorhydrat der Pyrrochinolinbase wird mit Ammoniak-Chloroform zerlegt. Aus Alkohol 40% d. Th. an Kristallen, die bei 188° schmelzen.



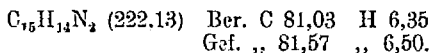
2. Aus 6-Hydrazino-5,8-dimethyl-chinolin und Methyl-äthyl-keton unter Methylverdrängung

Das Chlorhydrat des Hydrazins wird wie oben umgesetzt bei 14stündiger Kochdauer. Aufarbeitung wie üblich. Aus wenig Äthanol nach längerem Stehen Kristalle, die nach mehrfachem Umlösen aus wenig Alkohol bei 187° schmelzen und mit einem nach 1. dargestellten Präparat keine Erniedrigung geben. Ausbeute gering.

10,11-Tetramethylen-5(N),6-pyrrochinolin (L)

1. Aus 5-Hydrazino-chinolin und Cyclohexanon

Beim Kochen von 5-Hydrazino-chinolin-chlorhydrat mit Cyclohexanon und Eisessig scheiden sich schon nach wenigen Minuten rotorange gefärbte Kristalle aus. Nach einer Stunde wird das Chlorhydrat abgesaugt, mit Ammoniak-Chloroform zerlegt. Aus 0,5 g Hydrazin-chlorhydrat werden 0,42 g Pyrrochinolinbase vom Schmp. 280° erhalten. Mehrfaches Umkristallisieren aus Aceton steigert Schmp. auf 289°.



2. Aus 5-Hydrazino-6-methyl-chinolin und Cyclohexanon

5-Hydrazino-6-methyl-chinolin wird aus reinstem 5-Amino-6-methyl-chinolin¹⁰⁶ nach dem V. Meyerschen Verfahren wie üblich dargestellt. Die freie Hydrazinbase bildet farblose Nadeln vom Schmp. 158° unter Rötung. Blaßgelbes Chlorhydrat.

Cyclisierung. 0,8 g Hydrazin-chlorhydrat werden mit je 3 ccm Eisessig und Cyclohexanon 6 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach Übersättigen mit Ammoniak wird in Chloroform eingeschüttelt, mit 2n-Salzsäure der Basenanteil ausgezogen. Der salzsaure Extrakt wird erneut mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet, die Chloroformlösung nach Passieren einer Aluminiumoxydsäule eingeeengt, der Rückstand im Wasserstrahlvakuum destilliert. Die Fraktion 270–290° stellt ein braunrotes Öl dar, aus dem sich Kristalle ausscheiden. Das anhaftende rote Öl wird mit wenig Metha-

¹⁰⁵) Die Messungen verdanke ich Frl. Dr. F. Prückner, TH. München.

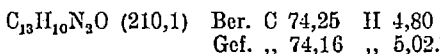
¹⁰⁶) E. Noelting und E. Trautmann, B. 23, 1657, 3655 (1890).

nol abgewaschen, die Kristalle umkristallisiert aus Methanol zu fast farblosen Nadeln, die bei 284° unter Bräunung schmelzen. Schmp. und Mischschmp. identisch mit dem auf dem ersten Weg dargestellten Präparat, Ausbeute am Produkt der Methylverdrängung 12–20 mg, entsprechend 1–2% d. Th.

Skraup-Synthese mit 2-Oxy-4-methyl-6-amino-chinolin 2-Oxy-4-methyl-p-phenanthrolin (LIII)

2-Oxy-4-methyl-6-amino-chinolin. 15 g 6-Nitro-2-oxy-lepidin werden in 100 ccm warmer halbkonz. Salzsäure suspendiert und mit 58 g Zinnchlorür-dihydrat in 80 ccm halbkonz. Salzsäure versetzt. Die beim Erwärmen auf 80° einsetzende Reaktion, bei der der Nitrokörper schnell in Lösung geht, muß durch Einstellen in kaltes Wasser gemäßigt werden. Die noch 10 Minuten gekochte Lösung scheidet beim Erkalten ein schwerlösliches Chlorostannat aus, das in heißem Wasser mit Schwefelwasserstoff vom Zinn befreit wird. Beim Neutralisieren mit Ammoniak kristallisiert die blaßgelbe Aminoverbindung aus: 9,6 g vom Schmp. oberhalb 300°. Ausbeute 74% d. Th.

Ringschluß. 1 g Base wird mit 0,7 g Arsensäure und je 7 g Glycerin, Schwefelsäure und Eisessig 7 Stunden gekocht. Die mit Wasser verdünnte Lösung setzt nach mehrstündigem Stehen Schmier ab, von denen abgegossen wird. Auf Ammoniakzusatz kristallisieren nach kurzer Zeit grüne Nadeln, deren Menge nach Reinigung durch zweimaliges Kochen der salzsauren Lösung mit Tierkohle und Ausfällen mit Ammoniak 330 mg betragen. Schmp. 312° u. Zers. Der negative Diazotierungsversuch zeigt, daß Ausgangsmaterial nicht mehr vorhanden ist. Aus Alkohol in farblosen Prismen.



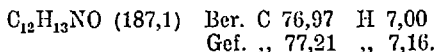
Der angulare Bau des Tricyclus ergibt sich aus der geringen blauvioletten UV-Fluoreszenz sowie aus der Löslichkeit in 2n-Natronlauge, ja schon in konz. wäßrigem Ammoniak und in siedender Sodalösung. Auch die Farblosigkeit der Salze mit Säuren ist für das angulare System charakteristisch.

Skraup-Synthese mit 2-Oxy-6-amino-4,5,8-trimethyl-chinolin

2-Oxy-4,9,10-trimethyl-1,5-anthrazolin (LV)

Acetoacetyl-p-xylylid. Man läßt p-Xylidin in die auf 160° erhitzte vierfach molare Menge Acetessigester einfließen und hält die Temperatur, bis das Absieden des entstehenden Alkohols beendet ist. Beim Erkalten Kristallbrei. Schmp. 96° nach Umlosen aus Methanol-Wasser.

2-Oxy-4,5,8-trimethyl-chinolin. Das p-Xylidid wird im sechsfachen Gewicht konz. Schwefelsäure gelöst und 30 min auf siedendem Wasserbad erwärmt. Beim Eingießen der erkalteten, kaum verfärbten Lösung in das 20fache Volumen Eiswasser scheidet sich das Carbostyrylderivat farblos und mikrokristallin ab. Ausbeute 90% d. Th. Umkristallisierbar aus viel Alkohol. Schmp. 238°.



2-Oxy-6-nitro-4,5,8-trimethyl-chinolin (LIV). 10 g Trimethyl-carbostyryl werden in 30 ccm konz. Schwefelsäure gelöst und bei 0° mit 4,1 ccm Salpetersäure d = 1,4 (10% Überschuß) in 10 ccm Schwefelsäure unter mechanischer Rührung nitriert. Nach 3–4 Stunden Stehen bei Zimmertemperatur gießt man auf Eis. Der blaßgelbe Nitrokörper kann aus Eisessig oder aus viel Alkohol umkristallisiert werden. Schmp. 275°. Ausbeute 80% d. Th.

$C_{12}H_{12}N_2O_3$ (232,1) Ber. N 12,07
Gef. „ 11,84.

2-Oxy-6-amino-4,5,8-trimethyl-chinolin. 10 g feingepulverter Nitrokörper werden mit 10 cem warmer konz. Salzsäure angeteigt und mit 40 g Zinnchlorür in 50 cem halbkonz. Salzsäure versetzt. Bei leichtem Erwärmen setzt Reaktion ein. Unter ständigem Schütteln wird der Nitrokörper in Lösung gebracht. Die noch 5 Minuten zum Sieden erhitzte hellrote Lösung läßt man abkühlen und versetzt mit 90 cem Wasser. Beim Anreiben scheidet sich ein orangefotes, prachtvoll kristallisiertes Zinn-Doppelsalz aus, das nach mehrstündigem Stehen im Eisschrank abgesaugt wird. In heißer wäßriger Lösung wird mit H_2S vom Zinn befreit. Auf Ammoniakzusatz kristallisiert das Amin in glitzernden blaßgelben Blättchen aus. Ausbeute 6,1 g. Nach. Umlösen aus Äthanol Schmp. 302°.

$C_{12}H_{14}N_2O$ (202,1) Ber. C 71,25 H 6,98
Gef. „ 71,16 „ 6,72.

Farbloses, in Wasser schwer lösliches Chlorhydrat.

Der Skraup-Ringschluß wird wie oben vorgenommen. Nach dem Abfiltrieren der aus der mit Wasser verdünnten Lösung ausgeschiedenen säureunlöslichen Flocken wird mit Tierkohle aufgeköcht, mit Ammoniak neutralisiert. Das sich ausscheidende braune Harz wird in 2n-Salzsäure erneut mit Tierkohle gekocht. Beim vorsichtigen Neutralisieren tritt eine hellbraune, lackartige Fällung auf, die beim Anreiben mit Methanol durchkristallisiert. Unter Aufarbeitung der Mutterlauge 405 mg. Nach Umkristallisieren aus Eisessig oder wenig Acetanhydrid blaßgelbe Nadeln, die bei 290° unter Dunkelfärbung schmelzen. Analysiert wird ein bei 100° i. V. getrocknetes Präparat.

$C_{15}H_{11}N_2O$ (238,13) Ber. C 75,59 H 5,93 N 11,77
Gef. „ 75,91 „ 6,01 „ 11,49.

Der sich schon aus der Bruttoformel ergebende lineare Bau wird durch folgende Kriterien gestützt: In Säuren mit gelber Farbe lösliche, blaßgelbe Eigenfarbe, Unlöslichkeit in Alkalien, kräftig hellblaue UV-Fluoreszenz der methanolischen Lösung.

2-Oxy-4,10,11-trimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin (LVI)

2-Oxy-4-methyl-6-hydrazino-chinolin. 8 g 6-Amino-2-oxy-4-methyl-chinolin werden in 80 cem konz. Salzsäure und 35 cem Wasser gelöst und bei 0° mit 3,2 g Natriumnitrit in 30 cem Wasser diazotiert. Beim Eingießen in Lösung von 24 g Zinnchlorür in 120 cem n-Salzsäure kristallisiert zunächst das Diazonium-chlorostannat aus. Im Laufe einiger Stunden geht es in Lösung, während sich das Chlorostannat des Hydrazins auszuschcheiden beginnt. Das Doppelsalz wird in siedender wäßriger Lösung mit H_2S zerlegt. Aus der heiß filtrierten Lösung kristallisiert bei Erkalten das Hydrazin-chlorhydrat in farblosen seidigen Nadeln aus. Unter Aufarbeitung der Mutterlauge Ausbeute 90% d. Th. Die freie Hydrazinbase kommt aus Wasser in farblosen Nadeln, die sich bei 240° zersetzen. Fehlingsche Lösung wird schon in der Kälte reduziert.

Indolringschluß. 0,3 g Hydrazin-chlorhydrat werden mit 4 cem Eisessig und 1 cem Methyl-äthyl-keton unter Rückfluß gekocht. Nach wenigen Minuten beginnt aus der dunkelgrünen Lösung die krist. Ausscheidung des Chlorhydrats des obengenannten Pyrrochinolin-Körpers. Nach halbstündigem Kochen läßt man erkalten, saugt ab. wäscht mit Eisessig aus, zerlegt das gelbe Chlorhydrat durch Digerieren mit warmem Wasser: 270 mg blaß grüngelber Kristalle, die aus viel Alkohol unter Zusatz von Tierkohle umgelöst werden können zu farblosen Nadeln, die wenig oberhalb 300° u. Zers. schmelzen. Ausbeute 90% d. Th.

$C_{14}H_{14}N_2O_2$ (226,1) Ber. C 74,30 H 6,23
Gef. .. 74,51 .. 6,13.

Unlöslich in 2n-Natronlauge.

2-Oxy-4-methyl-10,11-tetramethylen-5,6 (N)-pyrrochinolin wird auf völlig analoge Weise dargestellt mit Cyclohexanon als Ketonkomponente. Aus 1 g Hydrazin-chlorhydrat werden 0,72 g erhalten. Schmp. oberhalb 300°. In 2n-Salzsäure wegen geringer Basizität wenig löslich. Aus der methanolischen Lösung kristallisiert auf Zusatz von etwas konz. Salzsäure das goldgelbe Chlorhydrat.

Versuche zur Indolsynthese mit 2-Oxy-4,5,8-trimethyl-6-hydrazinochinolin (LVII)

2-Oxy-4,5,8-trimethyl-6-hydrazinochinolin. 0,6 g Aminokörper s. S. 149) werden in 8 ccm 2n-Salzsäure gelöst und mit 190 mg Natriumnitrit in 2 ccm Wasser diazotiert, dann in Lösung von 1,3 g Zinnchlorür in 10 ccm n/2-Salzsäure und 30 ccm Äthanol eingegossen. Nach wenigen Minuten Abscheidung hellgelber Kristalle (0,82 g) des Chlorostannats. Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Lösung. Das freie Hydrazin ist löslich in Essigsäure und Natronlauge.

Hydrazon des Methyl-äthyl-ketons. Das Chlorostannat wird in wenig heißem Wasser gelöst, von ungelöster Zinnsäure abfiltriert, mit Methyl-äthyl-keton versetzt. Aus der mit Natriumacetat gepufferten Lösung kristallisiert beim Anreiben das Hydrazon in blaßgelben Nadeln vom Schmp. 112°.

Cyclisierungsversuch. 0,16 g Hydrazon werden in 2 g Zinkchlorid bei 200° eingetragen. Temperatur wird innerhalb 30 Minuten auf 260° gesteigert und weitere 30 Minuten gehalten. Die Aufarbeitung mit Ammoniak-Chloroform liefert als einziges kristallines Produkt farblose Nadeln (aus Alkohol) vom Schmp. 236°, die sich in Mischschmp. und Löslichkeit als 4,5,8-Trimethyl-carbostyryl (S. 148) erweisen.

Ringschlußversuchen durch Erhitzen des Hydrazin-chlorostannats mit Methyl-äthyl-keton und Eisessig oder mit Cyclohexanon-Eisessig auf 230° war nicht mehr Erfolg beschieden. Das Reaktionsprodukt enthielt zwar geringe Mengen Ammoniumchlorid, das einzig faßbare Reaktionsprodukt war auch hier Trimethyl-carbostyryl.

2,3-Diphenyl-4,5-benzo-indol

Die Substanz wurde von Japp und Murray²³⁾ aus Benzoin und β -Naphtylamin in der Zinkchloridschmelze dargestellt. Beim Kochen von β -Naphtylamin mit Benzoin und β -Naphtylamin-chlorhydrat isolierten die Autoren nur β -Dinaphtylamin.

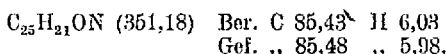
Unter milderen Bedingungen führt letzteres Verfahren zu ausgezeichneten Ausbeuten an Indolkörper: 1 g β -Naphtylamin, 0,5 g β -Naphtylamin-chlorhydrat und 2,2 g Benzoin werden gemischt und in ein auf 140° erhitztes Ölbad gebracht. Kräftige Wasserabspaltung, die nach 5 Minuten abklingt. Nach 10 Minuten bei 165° läßt man erkalten, reibt mit Chloroform unter Zusatz von wäßrigem Ammoniak durch. Nach Entfärbung an einer kleinen Al_2O_3 -Säule wird eingeeengt. Aus Methanol kristallisiert das Diphenyl-benzo-indol in derben glasklaren Prismen von blaßgrünem Oberflächen-glanz. Schmp. 166—167°. Ausbeute 3,0 g. Schwach violette UV-Fluoreszenz.

1-Methyl-2-desylamino-naphtalin (XII)

Unterwirft man 1-Methyl-naphtylamin-(2) der gleichen Reaktion, so wird lediglich ein Wasserstoffatom der Aminogruppe durch den Rest des Desoxy-benzoins ausgetauscht.

- 0,41 g Methyl-naphtylamin, 0,2 g von dessen Chlorhydrat und 0,9 g Benzoin werden vermischt und im Ölbad erhitzt. Bei 140° geht unter Aufschäumen die Wasserabspaltung vor sich. Bei weiterem zweistündigem Erhitzen bis 180° keine sichtbare

Veränderung. Aufarbeitung wie oben führt zu 1,1 g blaßgelber Kristalle, die nach mehrfachem Umlösen aus Chloroform-Methanol bei 152—153° schmelzen.



Einen Beweis für die Konstitution liefert auch die Hydrolyse mit methanolischer Salzsäure, die Benzoin und Methyl-naphtyl-amin zurückliefert.

Cyclisierungsversuchen der Desylamino-Verbindung mit Zinkchlorid, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Thionylchlorid, Stannichlorid, Nickelchlorid war kein Erfolg beschieden.

Anhang

Die Resonanzenergie des Naphthalins

Pauling und Sherman⁵¹⁾ ermittelten aus Verbrennungswärmen eine Naphthalinresonanz von 74,7 kcal. Die Resonanzenergie ist die Differenz der Soll-Hydrierungswärme, dem im Falle des Naphthalins fünffachen Wert der Hydrierungswärme der isolierten CC-Doppelbindung, und der direkt gemessenen, bzw. aus den Verbrennungswärmen bestimmten Hydrierungswärme des Systems. Entscheidend ist der Wert, der als Hydrierungswärme des Äthylensystems zugrunde gelegt wird. Nach Präzisionsmessungen von Kistiakowsky⁵²⁾ ist dieser Wert abhängig von Zahl und Art der Substituenten im System (R_1) $R_2C = C R_3 (R_4)$. Bei der Ermittlung der Benzolresonanz bedient sich Kistiakowsky der zu 28,59 kcal gemessenen Hydrierungswärme des Cyclohexens.

Für die Hydrierungswärme des Oktalins diskutiert W. Hückel¹⁰⁷⁾ auf Grund von Messungen der Verbrennungswärmen die Werte 24,1 und 25,2 kcal. Da die Bestimmung der Verbrennungswärme große Anforderungen an die Reinheit stellt, dürfte dieser Wert für das schwer völlig rein darstellbare, autoxydable Oktalin keine zuverlässige Basis sein. Die Abhängigkeit der Hydrierungswärme von den flankierenden Substituenten läßt für das Oktalin, von dem allerdings mehrere Strukturisomere existieren, keine wesentlichen Abweichungen vom Wert des Cyclohexens erwarten.

Einer neuen Tabelle von W. A. Roth¹⁰⁸⁾ sind folgende Werte von korr. Bildungsenthalpien entnommen:

Naphthalin	—18,2 kcal
Tetralin	9,7 kcal
Dekalin	58,3 kcal.

Für die Hydrierung des Benzolsystems beim Übergang vom Tetralin zum Dekalin ergibt sich eine Wärmetönung von 48,6 kcal. Die Übereinstimmung mit der von Kistiakowsky zu 49,8 kcal gemessenen Hydrierungswärme des Benzols ist ausgezeichnet. Letztere Hydrierungswärme setzt sich aus folgenden Stufen zusammen:

Benzol	Cyclohexadien	5,6 kcal
Cyclohexadien	Cyclohexen	26,8 kcal
Cyclohexen	Cyclohexen	28,6 kcal.

Bei einer entsprechenden Aufteilung der Hydrierungswärme des Tetralins ergibt sich für die des Oktalins 28,0 kcal als wahrscheinlichster Wert. Auf dieser Basis wird die Resonanzenergie des Naphthalins ermittelt:

1. Aus der Totalhydrierung zum Dekalin:

Soll-Hydrierungswärme 5×28 kcal — (Bildungsenthalpie Dekalin — Bildungsenthalpie Naphthalin) = $140,0 - 76,5 = 63,5$ kcal.

¹⁰⁷⁾ Theor. Grundl. d. org. Chem., 4. Aufl. I, 500.

¹⁰⁸⁾ J. D'Ans und E. Lax, Taschenbuch für Physiker und Chemiker, Springer, Berlin 1943, 709.

2. Aus partieller Hydrierung zum Tetralin:

Enthalpieänderung 27,9 kcal; Soll-Hydrierungswärme 56,0 kcal. Verlust an Resonanzenergie bei part. Hydrierung somit 28,1 kcal.

Im Tetralin noch vorhandene Resonanz: 35 kcal.

Resonanzenergie des Naphthalins: $35,0 + 28,1 = 63,1$ kcal.

Die recht gut übereinstimmenden Werte ergeben pro Kern eine Resonanz von rund 31,5 kcal, ein Wert, der zwischen dem von 25 kcal liegt, der sich mit Hilfe der Verbrennungswärme des Oktalins (nach Hückel) berechnet, und dem Wert 37,4 kcal nach Pauling, dessen Arbeit mir nicht im Original zugänglich ist.

Für die richtige Größenordnung dieser Aromatizitätsverringerung des Naphthalins spricht schon die Wärmetönung der ersten Hydrierungsstufe. Während die hypothetische Bildung des Cyclohexadiens aus Benzol mit 5 kcal endotherm verläuft, ist die Hydrierung des Naphthalins zur Δ^2 -Dihydrostufe in der gleichen Größenordnung exotherm.

Nachtrag bei der Korrektur (Zu S. 122):

Die Übertragung der Chinolinsynthese nach Combes auf das β -Naphthylamin wurde inzwischen experimentell bearbeitet von W. S. Johnson, E. Woroch und F. J. Mathews, Am. 69, 566 (1947); G. R. Clemo und N. Legg, Soc. 1947, 545. Die ausschließliche Bildung des linearen Tricyclus wurde von den amerikanischen Autoren mit einer desaktivierenden Wirkung der Seitenkette im Azomethin, von der vornehmlich die durch Doppelbindung verbundene Stellung 1 betroffen ist, gedeutet. Die S. 122 aus früheren Beobachtungen gefolgerte höhere Anregungsenergie sowie die Notwendigkeit scharfer Kondensationsmittel (wasserfreie Flußsäure oder 90proz. Schwefelsäure bei 100°) stehen im Einklang mit dieser Deutung.

(Abgeschlossen am 24. Februar 1948)



Dieses Zeichen,
Gewähr für größte Reinheit,
tragen alle Packungen unserer

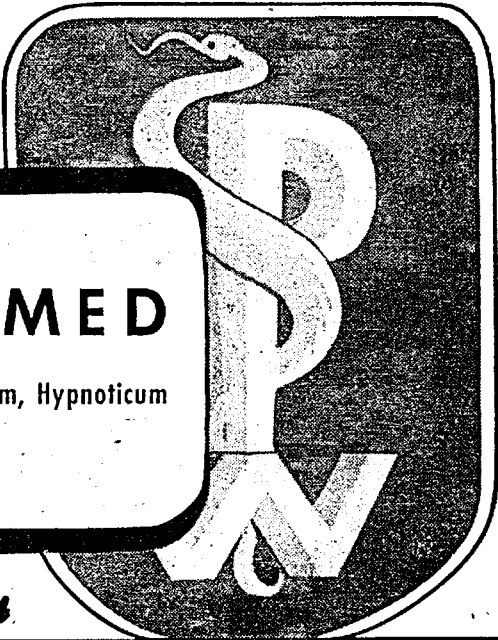
Labor- und Feinchemikalien Reagentien

Liefermöglichkeit gegenwärtig noch begrenzt.

CHEMISCHE FABRIK • DARMSTADT

NERVOMED

Nerventonikum, Sedativum, Hypnoticum



Philopharm

CHEM.-PHARM. FABRIK QUEDLINBURG

Gebrüder Klees

Fabrik für Laboratoriums-
Einrichtungen

Düsseldorf

Sondergebiete:

1. elektrische Öfen,
Trockenschränke,
Potentiometer
2. glastechnische
Apparate
3. Laboratoriums-
Möbel in Holz- u.
Eisenkonstruktion

Emulgiermaschine

„ZENITH“

D. R. P. u. Auslandspat.

3 Typen von ca. 30 bis
600 Lit. Stundenleistung
zur Herstellung von Sei-
fen, Salben, Linimenten,
Aromen und Weich-
krem sowie Lebertran-
u. Lack-Emulsionen usw.

*Einfache Handhabung
Hohe Qualität*

Wilhelm Steinhorst

Leipzig N 22

Ehrenstr. 49

Reparaturen

elektr. beheizter
Labor-Apparate

werden fachmännisch
ausgeführt

Spezialfabrik für
Elektro - Wärme - Apparate

Dipl.-Ing.

W. EHRET

Emmendingen-Kollmarsreute
(Baden)

Säureschutzbau

seit 35 Jahren!

Wir bauen

Behälterauskleidungen jeder Art

Spezialität:

Säurefeste Fußböden, Wandbeläge
in bewährter Qualität und Ausführung

Liefern

Normalsteine, Normalplatten,
Formplatten, Spezial-Säurekitte,
Sekurit-Säurelack, Sekuritkitte

Kostenlose Beratung

Auf Wunsch Ingenieurbesuch

Friedrich Rößler

Fabrik säurefester Produkte
Bensheim/Bergstraße

Erfolgreiche
ASTHMA-THERAPIE
durch

ZANEDO-Asthmapulver
ZANEDO^{FORTE}-Asthmapulver
ZANEDO-Inhalationsmittel
ZANEDO^{FORTE}-Inhalationsmittel
ZANEDO-Asthmatabletten
ZANEDO-Asthmatropfen
ZANEDRYN
injizierbares Asthma-Präparat

FISCHER HILLER

Graef
ERICH M. GRAEF

ARZNEIMITTELFABRIKEN

BERLIN-SCHÖNEBERG

MÜNCHEN 13

LOßNITZ/SACHSEN



Neuer pH-Tüpfelapparat

nach Prof. Dr. Tödt / Dr. Gollnow

Meßbereich 1—14 pH
Universalindikator 2—10 pH
mit 3 neuen Farbtafeln



Neue pH-Farbtafel

zur Prüfung der Bodenreaktion
und des Kalkbedarfs

Dr. G. Gollnow, Bln.-Charlotten-
burg 5, Hebbelstr. 20, sowie Bad
Segeberg/Holst. (24b), Kirchstr. 22

Reagenzien Feinchemikalien wissenschaftliche Präparate

für das Laboratorium
wenn auch in beschränktem Umfange
liefert wieder:

JULIUS MORSTADT K.G.
VILLINGEN-C 1 · SCHWARZWALD

Rückkauf von Liebigs Annalen

Sämtliche Verlagsvorräte sind vernichtet. Wir wären
deshalb unseren Abonnenten besonders dankbar für

Angebot aller entbehrlichen früheren Bände und Hefte

VERLAG CHEMIE G.m.b.H., Weinheim/Bergstr. und Berlin-Friedenau, Kaiserallee 89

In Kürze erscheint

OTTO HAHN

Künstliche neue Elemente

Vom Unwägbaren zum Wägbaren
(mit einer Einführung in die Geschichte der Kernspaltung)

Zu beziehen durch alle Buchhandlungen oder notfalls,
möglichst unter Einsendung von Packmaterial, vom

VERLAG CHEMIE GMBH.
Weinheim/Bergstr. u. Berlin-Friedenau, Kaiserallee 89

50 Seiten
Preis RM. 2.50



Chemische Fabrik gegr. 1896 **Dr. Reininghaus**

Chemikalien und Präparate für
Untersuchungslaboratorien und
wissenschaftliche Zwecke

A p o l d a, Postfach 46. — Telefon 1147.

CHEMIKALIEN

für Pharmazie und Technik

REAGENZIEN

in höchster Reinheit

FIXANAL-SUBSTANZEN

für die Maßanalyse

RIEDEL-DE HAËN A.-G. - SEELZE bei HANNOVER

Wir suchen zu kaufen:

Beilstein, Handbuch der organischen Chemie

IV. Auflage

C. H. BOEHRINGER SOHN

WISSENSCHAFTLICHE ABTEILUNG
INGELHEIM AM RHEIN

Säureschutzbau

HOTTELET & CO. K.G.

BERLIN-ZEHLENDORF · MÖLLERPFAD 5 · FERNRUF 760429

R E A G E N Z I E N

FEINCHEMIKALIEN

*für Industrie und Forschung
Wissenschaftliche Präparate*

in anerkannter Reinheit liefert, wenn auch
zur Zeit noch in beschränktem Umfang

Dr. Theodor Schuchardt G.m.b.H.

C h e m i s c h e F a b r i k
Zweigniederlassung Eisenach

Telefon: 1515

Telegramm-Adresse:
Schuchardt Eisenach

(15) EISENACH (THÜRINGEN)
(RUSSISCHE ZONE) Gaswerkstraße 30

ROHRLEITUNGEN

H Ä H N E , A P P A R A T E
GEFÄSSE BIS 300 LITER INHALT
aus säurebeständigem Steinzeug

FRANZ GERHARDT
S T E I N Z E U G F A B R I K
SCHÖNEBECK/Elbe, Friedrichstr. 54—57

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN
DER CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON
HEINRICH WIELAND
ADOLF WINDAUS · RICHARD KUHN

BAND 559 · HEFT 3

VERLAG CHEMIE GMBH · WEINHEIM/BERGSTR. · BERLIN

Liebigs Annalen der Chemie Weinheim/Bergstr. 1948 Band 559 Heft 3 · Seiten 153–233

Inhalt

Feodor Lynen und Hans Peter Hoffmann-Walbeck, Enzyme aus Schimmelpilzen. I. Über einige Gärungsfermente aus <i>Penicillium notatum</i> . (Mit 6 Figuren im Text)	153
Robert Purrmann und Fritz Eulitz, Zur Kenntnis des Erythropterins. Über die Flügelpigmente der Schmetterlinge XVI	169
Rolf Huisgen, Weitere Synthesen in der Reihe des 5,6 (N)-Pyroochinolins. Über Strychnos-Alkaloide XXXI. (Mit 5 Figuren im Text)	174
Heinrich Wieland, Rolf Huisgen und Robert Bubenik, Strychnin und Vomisin. Über Strychnos-Alkaloide XXXII. (Mit 2 Figuren im Text)	191
Jakob Freimann und Wilhelm Franke, Zur Kenntnis der sog. Glucoseoxydase. IV. Beziehungen zwischen enzymatischer und antibakterieller Wirkung. (Mit 7 Figuren im Text)	199
Wilhelm Franke, Joseph Mönch, Dora Kibat und Annemarie Hamm, Zur Autoxydation der ungesättigten Fettsäuren. V. Die Wirkung der Soja-Lipoxydase. (Mit 5 Figuren im Text)	221
Berichtigungen	233

Mitarbeiter dieses Heftes: Prof. Dr. *Wilhelm Franke*, geb. 28.5.1903 München; *Jakob Freimann*, geb. 29.9.1885 Wormen (Letland); Dozent Dr. *Rolf Huisgen*, geb. 13.6.1920 Gerolstein; Prof. Dr. *Feodor Lynen*, geb. 6.4.1911 München; Dozent Dr. *Robert Purrmann*, geb. 30.1.1914 Paris; Geh.Rat Prof. Dr. *Heinrich Wieland*, geb. 4.6.1877, Pforzheim.

Für die Herren Mitarbeiter zur Beachtung

Eine wissenschaftliche Zeitschrift kann bei gleichen Herstellungskosten ihren Lesern um so mehr bringen, je knapper die einzelnen Beiträge in der Abfassung gehalten sind. Kürze der Darstellung ist dem Verständnis förderlicher als ungehemmte Weitschweifigkeit. Auf lange historische Einleitungen, wiederholte Beschreibung schon geschilderter Operationen, auf die liebevolle Charakterisierung an sich nebensächlicher Substanzen aus parallelen Reihen sollte verzichtet werden. Hier ist gedrängte Zusammenfassung im Lapidarstil am Platze.

Die Redaktion behält sich vor, Manuskripte, die den angedeuteten Grundsätzen entgegenlaufen, dem Autor zur Kürzung zurückzusenden.

Abhandlungen, deren Inhalt, wenn auch nur teilweise, schon an anderer Stelle veröffentlicht worden ist oder veröffentlicht werden soll, werden nicht aufgenommen.

Es wird besonders gebeten, die Korrekturen rasch zu erledigen. Nur dann ist das schnelle Erscheinen der Abhandlungen gewährleistet. Verzögerte Korrekturen führen zur Zurückstellung des betr. Beitrags.

Zusammengesetzte Namen sollen der Übersichtlichkeit wegen schon im Manuskript unter Anwendung von Trennungsstrichen wiedergegeben werden, z. B. Methyl-naphthyl-keton, nicht „Methylnaphthylketon“.

Formeln, die wiederkehren, werden zweckmäßig mit römischen Ziffern numeriert, die einen einfachen Hinweis gestatten.

Die Wiedergabe der Analysen ist von Band 430 an in der Schreibweise festgelegt. Wenn für dieselbe Substanz mehrere Analysen gleicher Art gebracht werden, empfiehlt sich die Anordnung gemäß folgendem Beispiel: 0,1270, 0,1404, 0,1176 g Subst.: 0,2864, 0,3062, 0,2459 g CO_2 , 0,0903, 0,1244, 0,0990 g H_2O .

Zitate von Zeitschriften werden nach dem jetzt allgemein eingeführten Brauch abgekürzt.

Die Redaktion

Liebigs Annalen erscheinen in Bänden zu je drei Heften. Die Redaktion besorgt Prof. Heinrich Wieland, (13b) Starnberg Obb., Schießstättstraße 12.

50 Sonderabzüge werden den Verfassern umsonst geliefert; eine größere Zahl kann zur Zeit wegen Papiermangels nur in Ausnahmefällen geliefert werden.

Abonnementspreis je Band 16,— RM. zuzügl. Versandkosten.

Copyright 1947 by Verlag Chemie, GmbH., (Lizenz US-W-1113 Eduard Kreuzhage) Weinheim/Bergstr. und Berlin — Printed in Germany — Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten.

JUSTUS LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE

559. Band

Enzyme aus Schimmelpilzen

I. Über einige Gärungsfermente aus *Penicillium notatum*

Von *Feodor Lynen und Hans Peter Hoffmann-Walbeck**)

(Aus dem Chemischen Laboratorium der Universität München)

Mit 6 Figuren im Text

[Eingelaufen am 29. Dez. 1947]

Die meisten Autoren, die sich mit dem Stoffwechsel der Schimmelpilze beschäftigten, machen die Annahme, daß der Umbau der Zuckermolekel in *Essigsäure* in diesen Organismen über dieselben Zwischenprodukte verläuft wie in der Hefe. Dafür sprechen die Beobachtungen von C. Neuberg und C. Cohen¹⁾, daß auch bei Fadenpilzen *Acetaldehyd* mit Natriumsulfit abgefangen werden kann, sowie der Nachweis des carboxylatischen Zerfalls von *Brenztraubensäure* in *Aspergillus niger* und anderen Fadenpilzen durch T. Nagayama²⁾. Es war das Ziel unserer Versuche, die Lücke zwischen Traubenzucker und Brenztraubensäure auszufüllen. Dabei sollte vor allen Dingen die Beteiligung von *Phosphorsäureestern*, die ja von vornherein sehr viel Wahrscheinlichkeit für sich hatte, experimentell sichergestellt werden.

Als Enzymmaterial diente ein Stamm von *Penicillium notatum*³⁾, der in Oberflächenkultur auf Czapek-Dox-Lösung gezüchtet wurde. Zur Untersuchung kamen die durch das Ferment *Zymohexase* katalytisch beschleunigte reversible Spaltung des Fructose-diphosphats in Triosephosphat und die Dehydrierung des Triosephosphats zum Glycerinsäure-3-phosphat an der *Triosephosphat-Dehydrase*.

1. Zymohexase

Wenn Zymohexase den Harden-Young-Ester in zwei Moleküle Triosephosphat spaltet, entstehen aus einem gegen Alkali stabilen Phosphorsäureester solche, die durch n-NaOH zerlegt werden. Diese Veränderung,

*) Diplom-Arbeit, Universität München, 1946.

¹⁾ Bio. Z. 122, 204 (1921).

²⁾ Bio. Z. 116, 303 (1921).

³⁾ Der Penicillin produzierende *Penicillium notatum*-Stamm (SGP 23) wurde uns von Dr. Hans Knöll, Jena, überlassen, dem wir auch an dieser Stelle bestens danken.

die von O. Meyerhof und K. Lohmann⁴⁾ zum Nachweis der Zymohexase herangezogen wurde, diente D. Herbert, H. Gordon, V. Subrahmanyam und D. E. Green⁵⁾ bei der Isolierung des Ferments aus Kaninchenmuskeln zur quantitativen Bestimmung.

Mit Hilfe einer ähnlichen Testmethode, bei welcher das durch Natronlauge abspaltbare Phosphat proportional der Fermentmenge ist (Fig. 1), stellten wir fest, daß Zymohexase im *Penicillium-Mycel* in

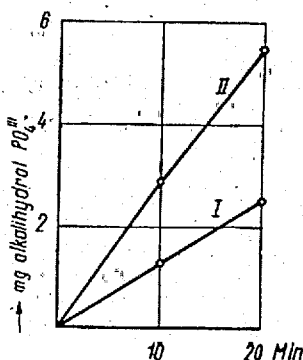


Fig. 1.
Zymohexase-Test

I: 0,5 g Mycel.

II: 1,0 g Mycel.

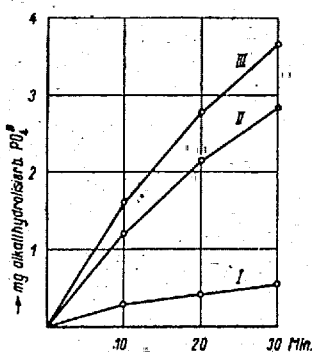


Fig. 2. Lokalisation
der Zymohexase

I: Rückstand.

II: Lösung.

III: Rückstand + Lösung.

hoher Aktivität enthalten ist. Berechnet man nämlich aus der Spaltungsgeschwindigkeit des Hexose-diphosphats die maximale Atmungsgröße — unter der Annahme, daß die Zuckermolekel vollständig verbrannt wird — dann ergibt sich $Q_{O_2}^6) = -82$, ein Wert, der den Sauerstoffverbrauch des Pilzes weit überschreitet.

Der *Fermentgehalt* des Mycel ändert sich während des Wachstums nur unwesentlich; ein zwei Tage alter Pilz besaß etwa dieselbe Aktivität wie einer, der sechs Tage gewachsen war und dabei reichlich Sporen gebildet hatte. Da aber die Ausbeute an Mycel nach sechs Tagen fast zehnmal größer war als nach zwei Tagen, ist es zweckmäßig, bei Untersuchungen über die Zymohexase aus *Penicillium notatum* mit älteren Kulturen zu arbeiten.

Das Ferment des Pilzes liegt als *typisches Lyo-Enzym* im Sinne der Anschauung R. Willstätters⁷⁾ vor, denn nach dem Zerreiben des

⁴⁾ Bio. Z. 271, 89 (1934).

⁵⁾ Bioch. Jl. 34, 1108 (1940).

⁶⁾ $Q_{O_2} = \text{mm}^3 \text{ O}_2 \text{ pro mg Trockengewicht pro Stunde.}$

⁷⁾ Vgl. E. Bamann und W. Salzer, Erg. Enzymf. 7, 28 (1938).

Mycel mit Sand läßt sich die Zymohexase nahezu vollständig mit Wasser extrahieren (Fig. 2). Auf Grund dieser Eigenschaft war damit zu rechnen, daß die Zymohexase beim Wachstum des *Penicillium notatum* auch zum Teil an die Nährflüssigkeit abgegeben wird, wie dies z. B. für die Glucose-Dehydrase bekannt ist⁸⁾. Doch hatte der Versuch in der intensiv gelb gefärbten Kulturflüssigkeit einer sechs Tage dauernden Züchtung eine Spaltung von Hexose-diphosphat nachzuweisen, ein vollkommen negatives Ergebnis.

Die rohe Zymohexase im Mycelextrakt erleidet fortschreitend Inaktivierung. Wird die Lösung bei Zimmertemperatur aufbewahrt, dann ist nach etwa vier Stunden keine Wirksamkeit mehr nachzuweisen (Fig. 3).

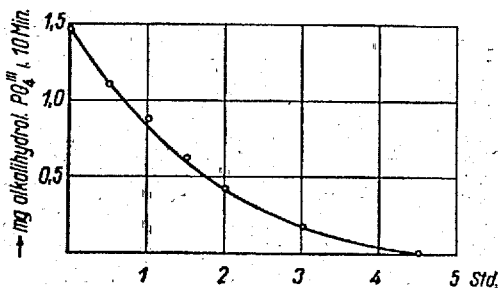


Fig. 3.

Inaktivierung der Zymohexase bei 18°.

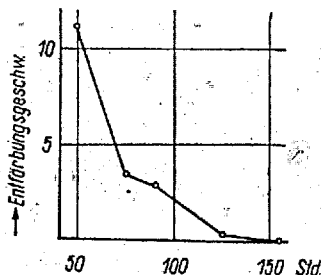


Fig. 4. Abhängigkeit der Triosephosphat-Dehydrase-Aktivität von der Züchtungsdauer.

2. Triosephosphat-Dehydrase

An die Spaltung des Fructose-diphosphats in Dioxyaceton-phosphat und Glycerinaldehyd-phosphat schließt sich in der Hefe die enzymatische Dehydrierung des Triose-phosphats, und zwar an der Molekel des Glycerinaldehyd-phosphats an. Auch diese Triosephosphat-Dehydrase ist in *Penicillium notatum* enthalten. Um sie nachzuweisen, wandten wir die Thunbergsche Acceptormethode, die Entfärbung von Methylenblau, an. Wie H. von Euler, E. Adler und H. Hellström⁹⁾ für Hefe fanden, sind zur Übertragung des Wasserstoffs vom Glycerinaldehyd-phosphat auf den Farbstoff außer der spezifischen Apo-Dehydrase noch Co-Dehydrase I und Flavin-Enzym nötig. Im frischen Mycel sind alle drei Komponenten enthalten. An Stelle von Glycerinaldehyd-phosphat wandten wir Hexose-diphosphat als Substrat an, das ja nach den Ergebnissen des ersten Abschnitts in Gegenwart des

⁸⁾ W. Franke, A. 555, 111 (1944), dort auch weitere Literaturhinweise.

⁹⁾ H. 241, 239 (1936).

Schimmelpilzes mit den Triose-phosphaten im enzymatischen Gleichgewicht steht.

Im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der Zymohexase ändert sich die Aktivität des dehydrierenden Systems während der Züchtung beträchtlich (Fig. 4). Die höchste Wirksamkeit besitzt ein 48 Stunden altes Mycel¹⁰⁾; älteres Material ist sehr viel weniger aktiv. Im Zeitpunkt der Sporenbildung, die im Versuch zu Fig. 4 nach etwa 100 Stunden eintrat, sinkt die Entfärbungsgeschwindigkeit schlagartig. Bei Untersuchungen über die Triosephosphat-Dehydrierung ist es also ratsam, mit möglichst jungem Pilzmaterial zu arbeiten.

Mit der gleichen Methodik wurde in unserm *Penicillium*-Stamm auch das Vorkommen von *Citronensäure*-, *Milchsäure*- und *Bernsteinsäure-Dehydrase* nachgewiesen. Dagegen besitzt der Pilz keine *Alkohol-Apodehydrase* oder nur geringe Mengen dieses Proteins, denn mit Äthylalkohol tritt nur eine unwesentliche Erhöhung der Entfärbungsgeschwindigkeit ein.

Diese Beobachtung gewinnt im Zusammenhang mit der Frage nach der alkoholischen Gärung von Schimmelpilzen Bedeutung. Denn wären in unserm Pilz auch alle anderen Gärungsfermente vorhanden, so könnte doch keine alkoholische Gärung ablaufen, da die Reduktion des Acetaldehyds, die Hydrierungsreaktion der Gärung, nicht stattfindet. Unter aeroben Bedingungen jedoch ist der Übergang des Zuckers in Acetaldehyd möglich, da jetzt der Sauerstoff die Rolle des Wasserstoffakzeptors übernimmt. Vielleicht hängt es damit zusammen, daß viele Schimmelpilze keine alkoholische Gärung besitzen und nur die Erscheinung der „oxydativen Gärung“ zeigen.

Auch das System der Triosephosphat-Dehydrierung verliert beim Aufbewahren an Wirksamkeit (Fig. 5). Ob diese Inaktivierung die

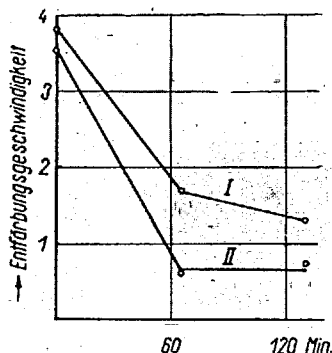


Fig. 5. Stabilität der
Trieosephosphat-Dehydrase

I: $\frac{m}{20}$ -Fluorid. II: ohne Zusatz.

Apo-Dehydrase, die Co-Dehydrase oder das Flavin-Ferment betrifft, wurde nicht untersucht. In Gegenwart von Fluorid ist die Wirksamkeitseinbuße geringer.

¹⁰⁾ Jüngerer Mycel wurde nicht untersucht, da sich innerhalb 24 Stunden aus den eingesäten Sporen zu wenig Pilzfäden entwickelt hatten.

3. Isolierung der Phosphor-glycerinsäure

Um die bisher beschriebenen Versuche auf eine experimentell gesicherte Grundlage zu stellen, sollte das aus dem Fructose-diphosphat unter der Wirkung von Zymohexase und Triosephosphat-Dehydrase gebildete Reaktionsprodukt *Glycerinsäure-phosphat* exakt nachgewiesen und in Substanz isoliert werden. Zu diesem Zweck wurde das zerriebene Pilzmycel mit Fructose-diphosphat, Co-Dehydrase I, Arsenat und Fluorid unter Sauerstoff geschüttelt. Das *Arsenat* bewirkt, daß die Dehydrierung des Glycerinaldehyd-phosphats in irreversibler Reaktion direkt zum Glycerinsäure-3-phosphat führt, während ohne diesen Zusatz in umkehrbarer Reaktion Glycerinsäure-1,3-diphosphat gebildet würde¹¹⁾; das *Fluorid* unterbindet den Abbau des Glycerinsäure-phosphats¹²⁾, der *Sauerstoff* dient als Wasserstoffacceptor.

Zum Nachweis des dabei gebildeten Glycerinsäure-phosphats machten wir von der Tatsache Gebrauch, daß dreistündiges Kochen mit n-Salzsäure aus Fructose-diphosphat 93,6 % der gebundenen Phosphorsäure in Freiheit setzt, während Glycerinsäure-3-phosphat unter denselben Bedingungen nur zu 5,6 % hydrolysiert wird¹³⁾. Beim Übergang von Fructose-diphosphat in Glycerinsäure-phosphat nimmt daher das schwer hydrolysierbare Phosphat zu. Bestimmt man also das gegen Säure beständige Phosphat zu Beginn und am Ende des Versuches, dann gibt die Differenz das Phosphat der neugebildeten Phosphor-glycerinsäure wieder.

Mit Hilfe dieser Methode wurde gefunden, daß 2,86 g Mycel bei 25° innerhalb 3 Stunden 5,4 mg Phosphor-glycerinsäure (entsprechend 2,75 mg PO_4) bilden. Diese Säure ließ sich aus der Versuchslösung als kristallisiertes saures Bariumsalz zur Abscheidung bringen, wobei eine Vorschrift von K. Lohmann und O. Meyerhof¹⁴⁾ als Vorbild diente.

Um die Identität des isolierten Salzes mit phosphor-glycerinsäurem Barium, außer durch die Phosphatanalyse, auch noch auf einem anderen Weg zu erhärten, wurde es in enzymatischer Reaktion mit Hilfe eines Präparates aus Pferdeniere in Brenztraubensäure-phosphat umgewandelt. Dabei geht das gegen Säure beständige Phosphat der Phosphor-glycerinsäure zu einem großen Teil in das hydrolysierbare Phosphat der Phosphor-brenztraubensäure über.

Der Bayerischen Akademie der Wissenschaften danken wir für finanzielle Unterstützung der vorliegenden Arbeit.

¹¹⁾ O. Warburg und W. Christian, *Bio. Z.* **303**, 40 (1939).

¹²⁾ R. Nilsson, *Sv. kem. tidskr.* **41**, 169 (1929).

¹³⁾ R. Robison u. M. G. Macfarlane, in Bamann-Myrbäck, *Methoden der Enzymforschung*, Leipzig 1941, S. 312.

¹⁴⁾ *Bio. Z.* **273**, 60 (1934).

Versuchsteil

Züchtung des Pilzes. Der Pilz, *Penicillium notatum* SGP 23, wurde in Erlenmeyerkolben auf Czapek-Dox-Lösung (40 g techn. Glucose, 3 g NaNO_3 , 1 g KH_2PO_4 , 0,5 g KCl, 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,01 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ mit Leitungswasser auf 1 Liter) zur Entwicklung gebracht. Die Impfung geschah mit einer Sporensuspension in sterilem Leitungswasser, die aus Vorkulturen auf Bierwürze-Agar gewonnen wurde. Als optimale Züchtungstemperatur für unsern Stamm ergab sich $T = 25^\circ$.

Versuche durch Zugabe von Hefekochsaft oder Citronensäure eine Verbesserung der Ausbeute hinsichtlich Mycelmenge oder Enzymaktivität zu erreichen, hatten keinen Erfolg; das Wachstum des Pilzes war gegenüber der zusatzfreien Kontrolle verzögert, vor allem in den Versuchen mit Citronensäure.

Innerhalb von 48 Stunden bildete sich ein dünnes Mycelhäutchen auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit, welches hinsichtlich der Triosephosphat-Dehydrase die höchste Aktivität besaß. Nach etwa 96 Stunden hatte sich die Oberseite des Mycels durch die inzwischen eingetretene Sporenbildung grün verfärbt und gleichzeitig hatte die darunter befindliche Flüssigkeit eine gelbe Farbe angenommen, die auf ihren Gehalt an Chrysoogenin zurückzuführen ist¹⁵). Nach 120 Stunden traten auf der Oberseite des Mycels intensiv gelbe Tränen auf.

Um das Pilzmaterial zu ernten, wurde die Nährlösung durch eine Glasritze abgesaugt, das Mycel mit etwa 1 Liter sterilem Leitungswasser gewaschen und nach dem Absaugen der Waschflüssigkeit auf Filterpapier leicht abgepreßt. Das auf diese Art gewonnene Mycel besitzt ein Trockengewicht von etwa 15 %.

1. Zymohexase

Bestimmungsmethode. Das frisch geerntete Mycel wurde unter Eiskühlung mit der gleichen Gewichtsmenge Sand und 5 Teilen Wasser, nach Zugabe eines Tropfens Toluol, in der Reibschale zerrieben. Der so bereitete Mycelbrei kam im Reagensglas nach Zugabe von 2 ccm 0,43m-Kalium-hexosediphosphat-Lösung und evtl. Wasser zur Inkubation, die im Wasserbad bei 30° geschah. Sofort nach Zugabe des Substrats und nach verschieden langer Inkubationszeit wurden je 1 ccm des Versuchsansatzes entnommen, mit 2 ccm 20proz. Trichloressigsäure versetzt und auf 10 ccm mit Wasser verdünnt. Die klare Lösung, nach Abfiltrieren der denaturierten Proteine, diente zur Phosphatbestimmung nach M. Martland und R. Robison¹⁶), wobei die kolorimetrische Messung der Farbintensität im Pulfrich-Stufenphotometer, unter Verwendung des Zeiß-Filters S 66,6/3,5, geschah. Als Vergleichslösung diente eine Probe mit bekannter Phosphatmenge.

Das anorganische Phosphat wurde direkt bestimmt, das alkali-hydrolysierbare Phosphat als Differenz zwischen diesem Wert und dem nach 20 Minuten langer Hydrolyse in n-NaOH bei $T = 20^\circ$ (Wasserbad) gemessenen Phosphatwert berechnet.

Die Werte aus Tab. 1 (vgl. auch Fig. 1) legen dar, daß die Menge des in einem gewissen Zeitintervall gebildeten, durch Alkali hydrolysierbaren Phosphats der Menge des zugesetzten Mycels direkt proportional ist. Die Bildungsgeschwindigkeit des durch Natronlauge abspaltbaren Phosphats ist also ein Maß für die vorhandene Zymohexase, falls nicht zu große Enzymmengen in Anwendung kommen.

Da 1 g Mycel (= 150 mg Trockensubstanz) in 10 Minuten 2,9 mg Triosephosphat- PO_4 , d. h. 0,03053 m-Mol, bilden, 1 m-Mol Triosephosphat bei der vollständigen Oxydation aber 67,2 ccm Sauerstoff verbraucht, entspricht diese Spaltung einer

$$\text{Atmungsgröße von } \text{O}_2 = - \frac{67200 \times 6 \times 0,03053}{150} = - 82.$$

Daß zur Zeit 0 schon etwas hydrolysierbares Phosphat angetroffen wird, ist darauf zurückzuführen, daß Substrat und Enzymmaterial miteinander in Berührung kommen, bevor die erste Probe zur Bestimmung des Anfangswertes entnommen wird.

¹⁵) P. W. Clutterbuck, R. Lovell u. H. Raistrick, *Bioch. J.* **26**, 1907 (1932).

¹⁶) *Bioch. J.* **20**, 848 (1926).

Tab. 1

0,5 g (a) bzw. 1,0 g (b) Mycel, 4 Tage alt; 2 ccm 0,43m-Hexosediphosphat mit Wasser auf 10 ccm Gesamtvolumen. $T = 30^{\circ}$.

Zeit (Min.)	Anorg. PO_4 (in mg)	Anorg. + Alk.hydr. PO_4	Alkalihydr. PO_4	Differenz
a) 0	8,1	8,8	0,7	
10	8,8	10,8	2,0	1,3
20	9,2	12,4	3,2	1,2
b) 0	8,5	9,0	0,5	
10	10,0	13,4	3,4	2,9
20	11,3	17,3	6,0	2,6

Wenn dabei auch unter Eiskühlung gearbeitet wurde, um die Enzymwirkung möglichst hintanzuhalten, so ließ sich eine geringe Spaltung doch nicht vermeiden.

Im folgenden Versuch wurden die Änderungen im anorganischen und alkalilabilen Phosphat über einen längeren Zeitraum verfolgt (Fig. 6). Im Ansatz mit Hexose-diphosphat (Kurve II) schließt sich an eine rasche Zunahme des labilen Phosphats in der ersten halben Stunde ein langsamerer Anstieg an, der bei etwa 210 Minuten, nach Erreichen des Gleichgewichts, zum Stillstand kommt. Von da ab nimmt das labile Phosphat wieder ab. Im Gegensatz dazu nimmt das anorganische Phosphat (I) über den ganzen Zeitraum hin zu, wobei allerdings auch hier die Geschwindigkeit ständig abnimmt. Ein Kontrollversuch ohne Zugabe von Hexose-diphosphat ergab, daß aus dem Pilzmycel allein keine durch Natronlauge hydrolysierbaren Phosphat-ester entstehen (II'); anorganisches Phosphat wird langsam in Freiheit gesetzt (I'). Die Bildung des anorganischen Phosphats in beiden Versuchsreihen

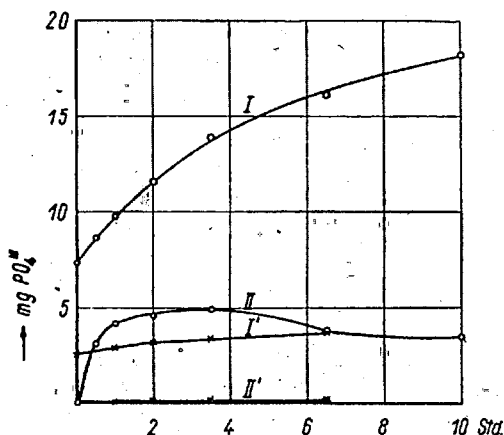


Fig. 6. Die Bildung von anorganischem und alkalilabilem Phosphat

1 g Mycel (5 Tage alt, schon sporifiziert)
 I, II: 1 ccm 0,43m-Hexosediphosphat + 5 ccm Wasser
 I', II': 6 ccm Wasser
 $T = 30^{\circ}$.

ist ohne Zweifel auf die Wirkung von *Phosphatasen* zurückzuführen, die aus den organischen Estern des Mycels oder des Substrats anorganisches Phosphat in Freiheit setzen.

Aus diesem Versuch ergibt sich für unsere Zwecke die praktische Schlußfolgerung, daß es, um ein exaktes Bild über die Zymohexaseaktivität zu erhalten, zwecklos ist, die Spaltungsversuche über eine halbe Stunde hinaus auszudehnen. Es wurde daher im folgenden stets die Bildung alkalilabiler Phosphate zwischen 0, 10, 20 und 30 Minuten gemessen.

Abhängigkeit der Zymohexase-Aktivität von der Züchtungsdauer

Das Ergebnis der Versuche mit Mycelien verschiedenen Alters ist in Tab. 1 zusammengestellt.

Tab. 1

Ansatz: 1,0 g Mycel + 5 ccm Wasser + 2 ccm 0,43m-Hexose-diphosphat.
T = 30°.

Bemerkungen zu den einzelnen Ansätzen:

2 Tage: dünnes weißes Mycelhäutchen (Ausbeute 0,4 g). Die Zahlen der Tabelle wurden durch Umrechnung auf 1 g Mycel erhalten.

3 Tage: Mycel rein weiß (Ausbeute 1,0 g).

4 Tage: schwach sporifiziert, gelbe Lösung (Ausbeute 2,2 g).

5 Tage: starke Sporenbildung, intensiv gelbe Tränen auf der Oberseite des Mycels (Ausbeute 3,8 g).

6 Tage: wie nach 5 Tagen, starke Träne (Ausbeute 3,8 g).

Alter des Mycels	Anorganisches PO ₄				Alkalilabiles PO ₄				Differenz		
Minuten	—	10	20	30	—	10	20	30	0—10	10—20	20—30
2 Tage. . .					0,40	2,05	3,10	3,86	1,65	1,05	0,76
3 Tage. . .	8,35	8,63	8,75	8,88	0,28	1,88	2,90	3,74	1,60	1,02	0,84
4 Tage. . .	8,85	9,24	9,56	9,80	0,39	1,96	2,99	3,85	1,57	1,03	0,86
5 Tage. . .	8,65	9,10	9,38	9,80	0,87	2,20	3,30	4,18	1,33	1,10	0,88
6 Tage. . .	9,10	9,37	9,55	9,66	0,00	1,43	2,48	3,28	1,43	1,05	0,80

Aus der Tabelle ist zu entnehmen, daß sich die Zymohexase-Aktivität über einen längeren Zeitraum hin nicht wesentlich ändert. Bei einem 27 Tage alten Mycel konnte allerdings weder Zymohexase noch Phosphatase nachgewiesen werden. Dieses Mycel hatte jedoch auch schon den gesamten Zucker der Nährlösung verbraucht und hatte auch die in den ersten Tagen gebildeten Säuren wieder verarbeitet (vgl. Tab. 2).

Tab. 2

Alter des Mycels	Drehung (20 cm Schichtdicke)	ccm n/10-NaOH verbr. zur Neutralisation von 10 ccm Nährlösung
75 Stunden	+ 9,40°	2,63
90 „	+ 8,80°	5,29
125 „	+ 6,85°	11,53
155 „	+ 5,30°	12,95
27 Tage	0,10°	0

Lokalisation der Zymohexase

2 g Mycel (80 Stunden alt) wurden wie üblich in Suspension übergeführt. Die eine Hälfte dieses Enzympräparates wurde direkt zum Test verwendet. Der Rest (= 6 ccm) wurde unter Eiskühlung 10 Minuten lang bei 2500 Umdr./Min. (Ecco-Zentrifuge) zentrifugiert. Das Volumen der überstehenden gelblichen, etwas trüben Lösung wurde mit 1 ccm Wasser auf 6 ccm gebracht. Der aus den unlöslichen Mycelteilen und Sand bestehende Bodensatz wurde in 5 ccm Wasser aufgewirbelt und damit das Gesamtvolumen ebenfalls auf 6 ccm gebracht. Darauf wurden die drei Proben mit je 2 ccm 0,43m-Hexosediphosphat-Lösung versetzt und bei 30° inkubiert. Der Verlauf der Triosephosphat-Bildung ist in Fig. 2 graphisch wiedergegeben.

Es ist zu erwähnen, daß der Mycelextrakt viel Eiweiß enthält, das beim Kochen koaguliert.

Stabilität der Zymohexase

4 g Mycel (4 Tage alt) wurden wie vorstehend beschrieben zu Lösung und Rückstand verarbeitet. Die das Ferment enthaltende Lösung (24 ccm) wurde bei 18° C im Wasserbad gehalten, im Abstand von etwa 30 Minuten wurden Proben zu je 3 ccm entnommen und nach Zugabe von je 1 ccm Hexosediphosphat-Lösung die Zymohexase in der üblichen Anordnung bestimmt. Das innerhalb 10 Minuten im Testsystem gebildete alkalilabile Phosphat ist ein Maß für das noch wirksame Ferment. Ergebnis vgl. Fig. 3.

2. Triosephosphat-Dehydrase

Bestimmungsmethode. Die Methylenblau-Versuche wurden in Keilin-Röhrchen ausgeführt, wobei in den Hauptraum der Gefäße Enzym, Substrat und etwaige Zusätze einpipettiert wurden, in den Hohlstopfen 0,3 ccm m/1000-Methylenblaulösung. Durch Zugabe von Wasser wurde das Gesamtvolumen auf 2,0 ccm gebracht. Die evakuierten Röhrchen wurden im Thermostaten bei 30° gehalten und die Zeitspanne bis zur 90proz. Entfärbung des zugesetzten Farbstoffs gemessen.

Die Berechnung der *Entfärbungsgeschwindigkeit* erfolgte nach der Thunbergschen Formel:

$$E = 100 \left(\frac{1}{t_0} - \frac{1}{t} \right)$$

wobei: t_0 = Entfärbungszeit in Gegenwart von Substrat,

t = Entfärbungszeit des Kontrollansatzes *ohne* Substrat
bedeuten.

Für die Methylenblau-Versuche wurde das Mycel unter Eiskühlung mit 3 Teilen m/10-Phosphatpuffer, $p_H = 7,4$, in der Reibschale *ohne* Zusatz von Sand verrieben und von dieser Suspension jeweils 1 ccm in die Keilin-Röhrchen gegeben.

Abhängigkeit der Dehydrase-Aktivität von der Züchtungsdauer

Das Mycel zu diesen Versuchen war auf einer Kulturflüssigkeit mit der dreifachen Zuckerkonzentration gewachsen. Es hatte sich daher langsamer entwickelt und zeigte erst nach 100 Stunden starke Sporenbildung.

Im Versuch wurde 1 ccm Mycelsuspension mit 0,3 ccm 0,43m-Hexosediphosphat-Lösung, 0,4 ccm Wasser und 0,3 ccm m/1000-Methylenblau versetzt, die Entfärbungszeit gemessen und zur Berechnung der Entfärbungsgeschwindigkeit mit einem Kontrollversuch, der an Stelle des Zuckersphosphats 0,3 ccm Wasser enthielt, verglichen. Das Ergebnis ist in Fig. 4 graphisch dargestellt.

Nachweis von Citronensäure-, Milchsäure- und Bernsteinsäure-Dehydrase

Wie die Werte aus Tab. 3 zeigen, verkürzen außer Hexose-diphosphat auch Citrat, Laktat und Succinat die Entfärbungszeit. Die entsprechen-

den Dehydrasen sind also in unserm Pilz enthalten, wenn auch in geringerer Aktivität als die Dehydrase für Triose-phosphat.

Tab. 3

Je 1 ccm Mycelsuspension (60 Std. gezüchtet), 0,3 ccm m/1000-Methylenblau.

Zusätze (jeweils 0,3 ccm)	Entfärbungszeit (Min.)	Entfärbungs- geschwindigkeit
0,43m-K-hexosediphosphat	9	6,35
m/5-Na-citrat	12	3,57
m/5-Na-laktat	14	2,38
m/5-Na-succinat	13	2,93
ohne	21	—

Versuche über die Alkohol-Dehydrase

Auch die Alkohol-Dehydrase läßt sich mit der Methylenblautechnik untersuchen¹⁷⁾; auch hier sind für die Verschiebung des Wasserstoffs vom Substrat auf den Akzeptor außer der spezifischen Apo-Dehydrase noch Co-Dehydrase I und ein Flavin-Enzym notwendig. Da das Dehydrierungsprodukt des Alkohols, der Acetaldehyd, die Reaktion hemmt, muß durch Zugabe von *Semicarbazid* der Aldehyd aus dem Reaktionsgemisch entfernt werden¹⁸⁾.

Wie die Versuche aus Tab. 4 beweisen — die mehrmals mit demselben Ergebnis wiederholt wurden — besitzt der von uns untersuchte *Penicillium*-Stamm *keine Alkohol-Dehydrase* oder nur geringe Mengen dieses Ferments. Mit Alkohol tritt nur eine unwesentliche Erhöhung der Entfärbungsgeschwindigkeit ein. Dieser Mangel betrifft die *Alkohol-Apodehydrase*; Co-Dehydrase I und Flavin-Enzym sind vorhanden, denn sonst dürfte im Kontrollversuch mit Hexose-diphosphat bzw. dem daraus entstehenden Triose-phosphat keine Dehydrierung ablaufen.

Tab. 4

Je 1 ccm Mycelsuspension (80 Stunden alt), 0,3 ccm m/1000-Methylenblau;
Gesamtvolumen: 2 ccm

Zusätze	Entfärbungszeit (Min.)	Entfärbungs- geschwindigkeit
ohne	65	—
0,3 ccm Alkohol	59	0,156
0,2 ccm m/10-Semicarbazid ¹⁹⁾	57	0,216
0,3 ccm Alkohol + 0,2 ccm m/10-Semicarbazid	59	0,156
0,3 ccm 0,43m-K-hexosediphosphat	32	1,58

¹⁷⁾ H. von Euler u. E. Adler, H. 226, 195 (1934), vgl. auch F. Lynen, A. 539, 8 (1939).

¹⁸⁾ E. Negelein u. H. J. Wulff, Bio. Z. 293, 351 (1937).

¹⁹⁾ 112 mg Semicarbazid-HCl in 10 ccm n/10-NaOH gelöst.

Das Fehlen der Alkohol-Apodehydrase ist kein allgemeines Charakteristikum der Schimmelpilze. In einem *Aspergillus niger*-Stamm konnte ein sehr wirksames Ferment nachgewiesen werden²⁰⁾.

Stabilität der Triosephosphat-Dehydrase

Es wurde die Aktivität einer bei 18° aufbewahrten Fermentlösung nach verschiedenen Zeiten im Methyleneblau-Versuch gemessen.

Nachdem wir mit Hexose-diphosphat arbeiteten, war es notwendig, eine etwaige Inaktivierung der Zymohexase bedeutungslos zu machen. Aus diesem Grunde wurde der Fermentlösung von vornherein Hexose-diphosphat zugefügt, so daß das *frische* Ferment die Spaltung in die Triose-phosphate durchführen konnte, die dann in der Lösung fast vollständig erhalten bleiben (vgl. Fig. 6). Wird nunmehr in einer Probe die Dehydrase-Aktivität nach der Akzeptor-Methode gemessen, dann ist eine etwaige Wirksamkeitseinbuße auf Inaktivierung der Dehydrase zurückzuführen. Im einzelnen gingen wir folgendermaßen vor:

6 g Mycel (65 Std. alt) wurden mit 18 ccm Phosphatpuffer wie üblich verrieben und je 5 ccm dieser Suspension mit Zusätzen bei 18° inkubiert. Die Zusätze waren

I: 1,5 ccm 0,43m-Hexosediphosphatlösung

Ia: 1,5 ccm Wasser

II: 1,5 ccm 0,43m-Hexosediphosphatlösung + 0,5 ccm m-Natriumfluorid

IIa: 0,5 ccm m-Natriumfluorid + 1,5 ccm Wasser.

Zu den angegebenen Zeiten wurden je 1,3 ccm (I, Ia) bzw. 1,4 ccm (II, IIa) dieser Ansätze in Keilin-Röhrchen einpipettiert und nach Zugabe von 0,4 bzw. 0,3 ccm Wasser die Entfärbung von 0,3 ccm m/1000-Methyleneblau in der üblichen Weise gemessen. Die Entfärbungszeiten und die daraus berechneten Entfärbungsgeschwindigkeiten sind in Tab. 5 aufgeführt (vgl. auch Fig. 5).

Tab. 5 (Entfärbungszeiten)

Inkubations- dauer (Min.)	I		Ia	II		IIa
0	13	3,54*	24	14	3,81*	30
65	37	0,62*	48	25	1,68*	43
130	49	0,74*	77	33	1,31*	58

* Entfärbungsgeschwindigkeit.

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, geht die Wirksamkeit des Ferments unter den angewandten Bedingungen innerhalb einer Stunde stark zurück. Ob diese Inaktivierung die Apo-Dehydrase, die Co-Dehydrase oder das Flavinenzym betrifft, wurde nicht untersucht.

In diesem Zusammenhang ist es jedoch bemerkenswert, daß durch m/20-Fluorid (II, IIa) die Aktivität des dehydrierenden Systems konserviert werden kann. Dies macht es recht wahrscheinlich, daß die Inaktivierung hier in erster Linie die Co-Dehydrase betrifft, zumal in Versuchen, über die hier im einzelnen nicht berichtet werden soll, der Nachweis geführt wurde, daß Extrakte aus Schimmelpilzen zugesetzte Co-Dehydrase I rasch unwirksam machen. Damit stimmt auch die Beobachtung überein, daß nach Zusatz von Co-Dehydrase Fluorid keinen Einfluß mehr auf die Entfärbungsgeschwindigkeit hat (vgl. Tab. 6).

²⁰⁾ F. u. F. Lynen, unveröffentlichte Versuche.

²⁴⁾ Als Na_2HAsO_4 -Lösung zugesetzt.

Diese Beziehungen, die am Ferment, der Hefe und des tierischen Muskels entdeckt wurden, treten, wie aus Tab. 6 zu entnehmen ist, auch bei der Dehydrase der Schimmelpilze in Erscheinung. Sowohl durch Co-Dehydrase als auch durch Zugabe von Traubenzucker oder Arsenat wird die Entfärbungsgeschwindigkeit beträchtlich erhöht. Fluorid hat die Aufgabe, den Abbau auf der Stufe der Phosphor-glycerinsäure festzuhalten.

Aus etwa 15 derartigen Acceptorversuchen ließen sich die Entfärbungsgeschwindigkeiten der Tab. 7 berechnen. Dabei ist für die Geschwindigkeit in Gegenwart von Hexose-diphosphat und Co-Dehydrase willkürlich der Wert 100 angenommen worden.

Tab. 7

Zusätze	Entfärbungs- geschwindigkeit
m/16-Hexose-diphosphat	35—65
„ + 2 mg Co I	100
„ + „ + m/20-Fluorid	80—90
„ + „ + „ + m/100-Arsenat	130—200
m/16-Hexose-diphosphat + 2 mg Co I + m/100-Arsenat	120—130
„ + „ + m/20-Glucose	130—150

Somit ergibt sich für unsere Zwecke die praktische Schlußfolgerung, daß bei Versuchen zur Isolierung der Phosphor-glycerinsäure Co-Dehydrase, Arsenat und Fluorid zuzusetzen sind.

Nachweis der Phosphor-glycerinsäure

Versuch I: 20 g Mycel (mit Sand zerrieben) wurden mit 60 ccm m/20-Phosphat, pH 7,4, 5 ccm Co-Dehydraselösung (= 100 mg des Co I-Präparates), 5 ccm m-Na-fluorid, 5 ccm m/5-Na-arsenat und 2 ccm 0,43m-K-hexosediphosphat versetzt. Diesem Ansatz wurde nach gründlichem Mischen eine Probe entnommen, mit Trichloressigsäure die Enzymtätigkeit abgestoppt und die verschiedenen Phosphatfraktionen bestimmt²⁵⁾. Der Rest wurde unter Sauerstoff 300 Minuten lang bei 30° geschüttelt. Als Wasserstoffakzeptor für die Dehydrierungsreaktion kam also Sauerstoff in Anwendung, dessen Eignung in einem Vorversuch ermittelt worden war. Am Ende des Versuchs wurde wiederum eine Phosphatanalyse durchgeführt. Es wurden gefunden:

	Anorg. PO ₄ (in mg)	Gesamt-PO ₄	Schwerhydrolys. PO ₄ (Gesamt-PO ₄ — 180'-PO ₄)
bei Versuchsbeginn	212	405	14
nach 300 Minuten	221	405	24

Es waren also im Versuch 10 mg schwerhydrolysierbares Phosphat gebildet worden.

Versuch II: In diesem Versuch sollte die Empfindlichkeit der kolorimetrischen Phosphatbestimmung, die im vorhergehenden Versuch durch die großen Mengen

²⁵⁾ Methodik vgl. R. Robison u. M. G. Macfarlane in Bamann-Myrbäck, Die Methoden der Fermentforschung, Leipzig 1941, S. 310.

anorganischen Phosphats nicht allzu hoch war, vergrößert werden. Um dies zu erreichen, wurde *nach* dreistündiger Hydrolyse mit n-HCl bei 100° das anorganische Phosphat mit Magnesiamixtur ausgefällt und im Filtrat das schwerhydrolysierbare Phosphat nach Veraschung kolorimetrisch bestimmt.

Zwei Parallelansätze (A und B) bestanden aus je 2,86 g Mycel (100 Stunden alt), dem nach Zerreiben mit 9 ccm $\text{m}/20$ -Phosphat, pH 7,4, 2 ccm 0,43m-K-hexosediphosphat, 0,8 ccm m-Na-fluorid , 0,8 ccm $\text{m}/5$ -Na-arsenat und 0,8 ccm Co-Dehydraselösung (= 16 mg Substanz) zugesetzt wurden. Die beiden Ansätze wurden in Rollflaschen mit Glasstopfen bei 25° 3 Stunden lang unter Sauerstoff geschüttelt. Es wurden gefunden:

	schwerhydrolysierbares PO_4 (in mg)	
	A	B
bei Versuchsbeginn.	20,3	19,7
nach 3 Stunden	23,0	22,5
Zunahme	2,7	2,8

Isolierung der Phosphor-glycerinsäure

20 g Mycel (100 Stunden alt) wurden unter Zusatz von 20 g Sand mit 60 ccm $\text{m}/20$ -Phosphatpuffer, pH 7,4, zerrieben und 5 ccm m-Na-fluorid , 5 ccm $\text{m}/5$ -Na-arsenat, 2 ccm 0,43m-K-hexosediphosphat sowie 5 ccm Co-Dehydraselösung (= 100 mg Substanz) zugesetzt. Das Ganze wurde in einer Flasche 300 Minuten lang bei 25° unter Sauerstoff geschüttelt, dann mit 20 ccm 20proz. Trichloressigsäure versetzt und der ausgefallene Niederschlag abzentrifugiert. Das Filtrat der Eiweißfällung wurde schwach ammoniakalisch gemacht, das anorganische Phosphat mit Magnesiamixtur gefällt und in der Zentrifuge abgetrennt. Die klare Lösung wurde mit Essigsäure auf pH 8 gebracht, eine Lösung von 0,76 g Bariumacetat in wenig Wasser zugefügt und das Ganze mit demselben Volumen Äthylalkohol versetzt. Nach etwa 12stündigem Verweilen im Kühlschrank wurde die Fällung abzentrifugiert, in 10 ccm Wasser aufgeschlämmt und mit 15 ccm Alkohol wieder ausgefällt. Der in der Zentrifuge abgetrennte Niederschlag kam nach Waschen mit Alkohol und Äther im Exsikkator zur Trocknung. Das trockene Pulver (= 715 mg) wurde mit 1,5 ccm n-Salpetersäure verrieben, das Ungelöste abzentrifugiert und der Bodensatz nochmals mit 1 ccm und dann mit 0,5 ccm Salpetersäure in der gleichen Weise behandelt. Die vereinigten Filtrate von gelbbrauner Farbe wurden tropfenweise mit 2n-NaOH versetzt, bis Kongopapier gerade nicht mehr gebläut wurde. Der dabei auftretende geringfügige Niederschlag wurde abzentrifugiert und das klare Filtrat nach Animpfen mit phosphor-glycerinsaurem Barium im Kühlschrank aufbewahrt. Dabei schieden sich neben kleinen hellgrauen Kriställchen des gesuchten Bariumsalzes auch wohlausgebildete Kristalle von Bariumnitrat ab. Der Bodensatz wurde nach etwa acht Tagen abzentrifugiert und mit 1 ccm Wasser durchgerieben, wobei Bariumnitrat in Lösung ging. Der unlösliche Rückstand wurde an der Zentrifuge zweimal mit je 0,25 ccm Wasser gewaschen und dann im Exsikkator getrocknet. Ausbeute: 2,1 mg.

Aus der Mutterlauge der ersten Kristallisation konnte nach weiterem 14tägigen Verweilen im Kühlschrank auf die gleiche Weise noch 1,0 mg des rohen Bariumsalzes gewonnen werden, so daß sich die Ausbeute aus diesem Ansatz auf insgesamt 3,1 mg erhöhte.

Wir stellten einen Ansatz wie in den vorhergehenden Versuchen zusammen, mit dem Unterschied, daß an Stelle des Pilzmycels 10 mg phosphor-glycerinsaures Barium zugesetzt wurden. Bei der Aufarbeitung dieser Mischung über die verschiedenen Stufen unsres Isolierungsverfahrens kamen schließlich 1,9 mg des rohen kristallinen Bariumsalzes zur Abscheidung, also eine Menge, die ungefähr der im Normalansatz isolierten Substanz entspricht.

Wir dürfen daher die Annahme machen, daß in unsren Versuchen mehr Phosphor-glycerinsäure entstanden war, als wir isolieren konnten. Dafür sprechen auch die Ergebnisse der Phosphatanalyse (vgl. S. 166), die wesentlich größere Mengen Phosphor-glycerinsäure anzeigten.

Um die Möglichkeit auszuschalten, daß die Phosphor-glycerinsäure schon von Anfang an vorhanden war und nicht erst während des Versuchs entstanden ist, wurde ein neuer Versuchsansatz in zwei Teile geteilt, die eine Hälfte sofort mit Trichloressigsäure abgestoppt, die andre 3 Stunden lang unter Sauerstoff geschüttelt und dann erst mit Trichloressigsäure versetzt. Beide Teile wurden in der beschriebenen Weise aufgearbeitet. Während aus der inkubierten Hälfte wieder 2,1 mg Bariumsalz isoliert wurde, konnte in der sofort abgestoppten Probe keine Phosphor-glycerinsäure gefunden werden.

Identifizierung des phosphor-glycerinsauren Bariums

Zu diesen Versuchen standen 13,0 mg rohes Bariumsalz zur Verfügung, das aus mehreren Ansätzen gewonnen worden war. Das Rohprodukt wurde nach A. Vercellone und C. Neuberg²⁶⁾ mit 1 ccm 0,05n-HCl verrieben, das Unlösliche abzentrifugiert und die klare Lösung mit 2 ccm Äthanol versetzt, worauf das Salz in nadel- bzw. scherenförmigen Kristallen wieder zur Ausscheidung kam. Ausbeute: 6,9 mg.

Die Phosphatanalyse ergab die Werte von Tab. 8, in welcher auch die Werte eines Vergleichspräparates von reiner Phosphor-glycerinsäure aufgenommen sind. Es wurden jeweils 3 mg Substanz eingesetzt.

Tab. 8

	Gesamt-PO ₄		Schwerhydrol. PO ₄	
	in mg	in %	in mg	in % (des Ges.-PO ₄)
Isoliertes Bariumsalz	0,703	23,4	0,605	86,1
Phosphor-glycerinsaures Barium . . .	0,722	24,1	0,626	86,8

Es erschien uns wünschenswert, die Identität unsres Salzes mit phosphor-glycerinsaurem Barium noch auf einem anderen Wege zu beweisen. 3-Phosphor-glycerinsäure steht, wie O. Meyerhof und Mitarbeiter²⁷⁾ entdeckten, mit 2-Phosphor-glycerinsäure und Phosphorbrenztraubensäure im enzymatischen Gleichgewicht, dessen Lage von der Temperatur abhängig ist. Bei 60° enthält das Gemisch 41 % Phosphorbrenztraubensäure. Diese Säure wird aber beim Kochen mit n-Salzsäure während 60 Minuten quantitativ gespalten²⁷⁾, während aus den Phosphor-glycerinsäuren unter denselben Bedingungen nur 2 % des Phosphats in Freiheit gesetzt werden. Wir können also durch eine Phosphatanalyse die Umwandlung des Glycerinsäure-phosphats in Brenztraubensäure-phosphat verfolgen.

²⁶⁾ Bio. Z. 280, 161 (1935).

²⁷⁾ K. Lohmann u. O. Meyerhof, Bio. Z. 273, 60 (1934); O. Meyerhof u. W. Kießling, Bio. Z. 276, 239 (1935).

Als Enzymquelle diente ein Extrakt aus Pferdeniero, zu dessen Bereitung 100 g in der eiskühlten Fleischhackmaschine zerkleinertes Gewebe mit 100 ccm destill. Wasser bei 0° verrieben und die Zelltrümmer abzentrifugiert wurden. Nach Zugabe von 0,26 % NaHCO_3 wurde die überstehende trübe Lösung bei Zimmertemperatur 2 Stunden lang gegen eine 0,26proz. NaHCO_3 -Lösung dialysiert. Dieser Vorgang hat den Zweck, den Phosphatgehalt der Enzymlösung zu verringern und durch Entfernung der im frischen Extrakt vorhandenen Adenosin-phosphorsäuren die Hydrolyse der Phosphor-brenztraubensäure zu verhindern²⁸⁾.

Eine Mischung aus 1 ccm Enzymlösung und 1 ccm einer Lösung von phosphoglycerinsaurem Natrium (aus 3,8 mg Ba-salz dargestellt) wurde 1 Minute lang bei 60° gehalten, dann mit 2 ccm 20proz. Trichloressigsäure versetzt und mit Wasser auf 10 ccm verdünnt. Aliquote Teile der filtrierten Lösung dienten zur Analyse. Es kamen nebeneinander reines Ba-glycerinsäurephosphat und unser Bariumsalz zur Anwendung, wobei die Bestimmungen ergaben:

	Nierenextrakt allein	Nierenextrakt + reines Salz (0,917 mg PO_4)	Nierenextrakt + isoliertes Salz (0,890 mg PO_4)
Anorg. PO_4 (in mg) . . .	0,485	0,603	0,652
Differenz		0,118	0,167
Anorg. PO_4 + 60'- PO_4 ²⁹⁾ .	0,485	0,919	0,946
60'- PO_4	0	0,316	0,294

Die Zunahme des anorganischen Phosphats im Ansatz mit Phosphor-glycerinsäure läßt erkennen, daß die Inaktivierung der Enzymlösung nicht vollständig erreicht wurde und ein Teil der Phosphor-brenztraubensäure der Spaltung anheimfiel. Dieser Anteil ist dann natürlich von der Gesamtmenge des zugesetzten Esterphosphats in Abzug zu bringen, so daß sich folgende Bilanz ergibt.

	Theorie	reines Salz (in mg PO_4)	isoliertes Salz
als Phosphor-glycerinsäure zugesetzt .		0,917	0,890
anorg. PO_4 gebildet		0,118	0,167
Rest		0,799	0,723
davon in 60 Min. durch n-HCl hydro- lysiert		0,316	0,294
das sind	41 %	39,6 %	40,7 %

²⁸⁾ Vgl. K. Lohmann in Bamann-Myrbäck, Die Methoden der Fermentforschung, Leipzig 1941, S. 2564.

²⁹⁾ 60'- PO_4 = während 60 Minuten bei 100° durch n-HCl abgespaltenes PO_4 .

Zur Kenntnis des Erythropterins

Über die Flügelpigmente der Schmetterlinge XVI ¹⁾

Von Robert Purmann und Fritz Eulitz

(Aus dem Chem. Laboratorium der Bayer. Akademie der Wissenschaften zu München)

[Eingelaufen am 1. Januar 1948]

Pieriden haben in den Flügelschuppen Pigmente aus farblosen, gelben und orangeroten Substanzen. Die verbreitetste farblose Substanz ist Leukopterin (I). Als gelber Farbstoff ist bisher nur Xanthopterin (II) gut definiert. Der *orangerote* Farbstoff war von C. Schöpf näher untersucht und als *Erythropterin* bezeichnet worden²⁾ (eventuell als Gruppenbezeichnung, falls es sich um mehrere Individuen handeln sollte).

Die Untersuchungen werden kompliziert durch ein tief violettrotes Oxydationsprodukt, *Pterorhodin*, das sich in sauren Lösungen der meisten Pieridenpigmente bildet. Es leitet sich auch vom Pteridin-Gerüst ab, und die Konstitution dürfte der Formel III entsprechen¹⁾. Die natürliche *Vorstufe* dieses Pterorhodins ist aber noch nicht bekannt. Schöpf²⁾ und Hopkins³⁾ halten Erythropterin für die Vorstufe. In der Tat findet man, arbeitet man die erythropterinhaltigen Rohpigmente z. B. von *Catopsilia argante* auf Pterorhodin auf¹⁾, in den Mutterlaugen kein Erythropterin. Und isoliert man nach der Vorschrift, die wir anschließend geben, aus dem Pigment von *C. argante* reines Erythropterin, so ist daneben nur wenig Pterorhodin zu gewinnen. Während hier also Erythropterin an der Bildung des Pterorhodins beteiligt zu sein scheint, verweist Hopkins aber ausdrücklich³⁾, wie schon einmal zitiert, auf einige ganz blaßgelbe Pieriden, die wenig Erythropterin enthalten und die besonders hohe Ausbeuten an Pterorhodin geben. Und ein Begleiter des Xanthopterins (der durch Umkristallisation des Bariumsalzes nicht abzutrennen war) ist auch eine Pterorhodin-Vorstufe, aber sicher nicht Erythropterin, er ist farblos oder blaßgelb.

Schöpf hat Erythropterin durch Fraktionieren mit Salzsäure angereichert und schließlich aus heißer, verdünnter Salzsäure kristalline Produkte erhalten. Je weiter aber die Reinigung getrieben wird, desto niedriger wird der Stickstoffgehalt und desto geringer am Ende die Menge des daraus zu gewinnenden Pterorhodins. Wir sind bereit, dieses von Schöpf fast rein isolierte Produkt als Erythropterin zu bezeichnen, aber dann ist Erythropterin nicht *die*, sondern allenfalls ein Teil einer Vorstufe, denn wenn es schließlich ganz rein ist, entsteht daraus durch Oxydation keine Spur Pterorhodin mehr. Es mag füglich bezweifelt werden, daß dieses Erythropterin genuin sei. Denn sowohl bei der Auf-

¹⁾ XV. Mitteilung R. Purmann u. M. Maas, A. 556, 186 (1944).

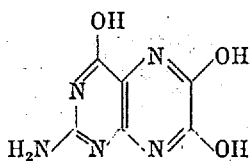
²⁾ C. Schöpf u. E. Becker, A. 524, 49 (1936).

³⁾ Proc. Roy. Soc. (B) 130, 359 (1942).

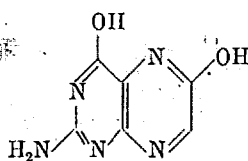
arbeitung von Schöpf, als auch bei der Aufarbeitung, die wir anschließend beschreiben; kann ein empfindliches Molekül verändert werden. Aber das Chromophor und die Löslichkeitseigenschaften bleiben unbeeinflusst.

Während Xanthopterin mit schwefliger Säure reagiert⁴⁾, ist das Chromophor des Erythropterins gegen SO_2 stabil. Wird die Lösung des Pigmentes von *C. argente* in Ammoniak mit einem Überschuß von SO_2 gefällt, dann bleiben Xanthopterin als SO_2 -Addukt und die basischen Pigmentbestandteile in Lösung, während Erythropterin und Leukopterin ausfallen, die nach einigen Wiederholungen dieser Operation durch Verwendung von wenig Ammoniak, in dem Erythropterin viel leichter löslich ist als Leukopterin, oder von Pottaschelösung, in der das Kaliumsalz des Leukopterins sehr schwer löslich ist, leicht getrennt werden können. Das so gewonnene rohe Erythropterin gibt mit Schwefelsäure 1:1 ein schön kristallisiertes hellrotes Sulfat und daraus mit 35- bis 40proz. Überchlorsäure ein ebenso schönes Perchlorat. Man erhält die freie Verbindung aus diesen Salzen mit heißer n/100 Salzsäure in prachtvollen chromsäurefarbenen Blättchen.

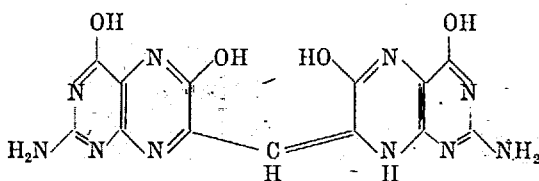
Formel IV sei für Erythropterin vorgeschlagen. Die Analysen des Sulfats und Perchlorats passen auf die Summe $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_5\text{N}_5$. Die Oxydation mit Perhydrol in Schwefelsäure gibt Xanthopterincarbonsäure (V) (neben Leukopterin), womit Art und Substitution des Heterocyclus und die Stellung der Seitenkette bestimmt sind. Katalytische Hydrierung entfärbt die Lösung vollständig — wohl unter Bildung von VI —, während die Reoxydation der farblosen Lösung (VI) mit Pt/O_2 zu der charakteristischen Farbe und Fluoreszenz des Xanthopterin-Systems (VII) und nicht mehr zurück zur Farbe des Erythropterins führt.



I.
Leukopterin

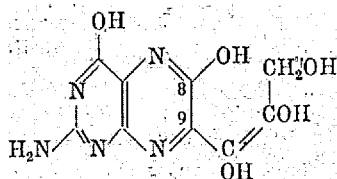


II.
Xanthopterin



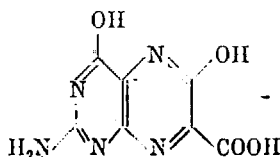
III. Pterorhodin

⁴⁾ H. Wieland u. R. Purrmann, A. 539, 179 (1939).



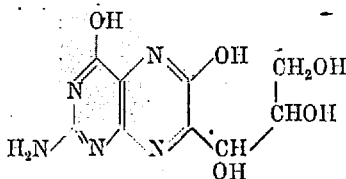
IV.

Erythropterin

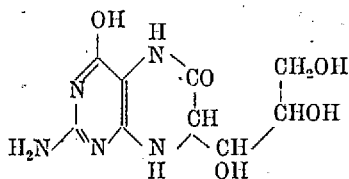


V.

Xanthopterincarbonsäure



VII.



VI.

Die Erythropterin-Formel hat kein asymmetrisches C-Atom. Die tautomeren Formeln sind gleichwertig, doch muß in Konjugation zum Heterocyclus (Xanthopterinchromophor) eine CO- bzw. CC-Doppelbindung sein, um die Farbe des Erythropterins zu erklären.

Erythropterin gibt mit o-Phenylendiamin in verdünnter Salzsäure eine tief violettrote Substanz, die das gleiche Chromophor wie Pterorhodin besitzt und ihm auch sonst zum Verwechseln ähnlich ist. In dieser Verbindung ist ein Pteridin- mit einem Chinoxalin-Kern verknüpft, während Pterorhodin zwei Pteridin-Kerne enthält. Aber mit 2.4.5-Triamino-6-oxypyrimidin gab Erythropterin unter den versuchten Bedingungen kein Pterorhodin. Während also eine Pterorhodin-Vorstufe sehr wohl eine leicht spaltbare Verbindung des Erythropterins mit der Triamino-Base sein könnte, bleibt die endgültige Aufklärung dieser Verhältnisse einer weiteren Untersuchung vorbehalten.

Die bisher in der Natur gefundenen Derivate des Pteridins sind im Pyrimidin-Ring gleich substituiert und Erythropterin fügt sich in diesen Rahmen. In der Folsäure ist die Seitenkette in Stellung 8⁵⁾, im Erythropterin (und Pterorhodin) ist sie in 9.

Versuche

Erythropterin aus *C. argente*

50 g mit Äther entfettete Flügel (von etwa 2500 Tieren) werden viermal mit insgesamt 2 l siedendem Spirit (3% Eisessig) übergossen und abgepreßt und mit 350 ccm Wasser gewaschen. Dann 1mal mit 400 und 3mal mit 300 ccm 0,2 n NH₃ durchgeknetet und abgepreßt und die Flüssigkeit durch Papierschleim gesaugt. (Weitere Extraktion mit

⁵⁾ R. B. Angier usw., Science 103, 667 (1946).

$n/2$ NH_3 gibt wenig und unreines Produkt.) Die ammoniakalischen Lösungen werden gemeinsam mit 500 ccm 1 n SO_2 -Lösung gefällt und abgeschleudert. Lösung I.

Der Niederschlag wird mit Wasser zu 350 ccm aufgerieben und unter Abkühlung mit 250 ccm 2n- NH_3 versetzt (noch trübe Lösung) und mit 600 ccm 1n- SO_2 -Lösung gefällt. Dann wird SO_2 -Gas bis zur kongosauren Reaktion eingeleitet und wieder abzentrifugiert. Lösung II.

Der Niederschlag wird nun mit Wasser aufgerieben und mit 100 ccm 2n- NH_3 ausgezogen und abgeschleudert: der Rückstand enthält das Leukopterin. In die Lösung wird unter Kühlung bis zur kongosauren Reaktion SO_2 eingeleitet. Zentrifugieren gibt Lösung III und einen Niederschlag, der im Zentrifugenglas mit Wasser und Sprit gewaschen und im Exsikkator getrocknet und dann vorsichtig in 5 ccm konz. Schwefelsäure gelöst wird. Die Lösung wird mit 5 ccm Wasser versetzt und nach einigem Stehen wird die Kristallisation abgesaugt und, mit H_2SO_4 1:1, Eisessig und Äther gewaschen. Ausbeute 175 mg Erythropterinsulfat in hochroten Blättchen. Zur Reinigung werden 100 mg Sulfat in 0,5 ccm konz. Schwefelsäure mit 0,5 ccm Wasser versetzt und wie oben abgesaugt und gewaschen.

Zur Analyse wurde bei 110° i. V. getrocknet.

$\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_5\text{N}_5 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ (365,3) Ber.: C 29,59 H 3,04 N 19,17
Gef.: „ 30,19 „ 3,49 „ 19,47.

Zur Darstellung des *Perchlorats* werden 20 mg Sulfat in 0,7 ccm 40proz. Überchlorsäure warm gelöst. Beim Stehen kristallisieren 15 mg stabförmige dunkelorange Prismen, die mit Überchlorsäure, Alkohol und Äther gewaschen und bei 120° i. V. getrocknet werden.

$\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_5\text{N}_5 \cdot \text{HClO}_4$ (367,7) Ber.: C 29,40 H 2,74 N 19,05 Cl 9,64
Gef.: „ 30,03 „ 2,82 „ 18,62 „ 9,62.

Zur Darstellung von kristallisiertem Erythropterin werden 20 mg gepulvertes Sulfat (oder Perchlorat) mit 5 ccm $n/100$ HCl übergossen, aufgeköcht und warm abgesaugt. Es kristallisieren 13 mg prachtvolle, dunkelrote Blättchen.

Die von Schöpf aus verschiedenen Pieriden durch Fraktionieren mit Säure und Umlösen aus $n/10$ bzw. $n/100$ HCl gereinigten Präparate von freiem Erythropterin gaben Analysenwerte, die im Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt gut stimmen, im Stickstoffgehalt zu hoch liegen.

$\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_5\text{N}_5$ (267,2) Ber.: C 40,45 H 3,40 N 26,21
von Schöpf Gef.: „ 40,20 „ 3,24 „ 31,66⁵⁾.

Die Lösungen I, II und III wurden i. V. eingedampft und mit Wasser abgesaugt und gewaschen. Die so erhaltenen 3,8 g Substanz gaben mit Barytwasser nach der üblichen Vorschrift 2 g Xanthopterinbarium, aus dem durch Oxydation mit Luft-sauerstoff in $n/4$ HCl nur 32 mg Pterorhodin gewonnen werden konnten, gegen 450 mg aus der gleichen Flügelmenge nach der früher gegebenen Vorschrift.

⁵⁾ Bei C und H Mittel aus 17 Werten, die zwischen 38,81 und 41,48% für C und 2,97 und 3,58% für H streuen. Bei N Mittel aus 26 Werten, die zwischen 27,29 und 35,02% streuen.

Der oben erwähnte Rückstand, der das Leukopterin enthält, wird in 50 ccm Wasser mit 5 ccm 2n NaOH heiß gelöst, von einigen Flocken filtriert und in 100 ccm siedende 2n-Salzsäure getropft. Der Niederschlag wird mit 1,5 ccm Jodwasserstoffsäure (D 1,96) ausgekocht und zweimal aus Natronlauge/Salzsäure umgefällt. Ausbeute 286 mg krist. Leukopterin.

Xanthopterincarbonensäure aus Erythropterin

61 mg Erythropterinsulfat in 0,4 ccm konz. Schwefelsäure werden kalt mit 0,1 ccm Perhydrol in 1,9 ccm konz. Schwefelsäure vermischt und 40 Min. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die dann hellgelb gewordene Lösung wird (zu insgesamt 30 ccm) auf Eis gegossen und eine Nacht im Eisschrank stehen gelassen. Abzentrifugiert, mit Sprit und Äther gewaschen und getrocknet erhält man 29 mg hellgelbe Substanz, die mit insgesamt 1,8 ccm 2n Pottaschelösung in kleinen Anteilen im Zentrifugenglas warm ausgezogen wird. Rückstand I. Die gelbe Lösung wird mit Wasser auf 10 ccm aufgefüllt und siedend in 5 ccm siedende 2n Salzsäure getropft. Der abzentrifugierte Niederschlag (16 mg) wird mit 0,5 und 0,4 ccm 2n-Pottaschelösung warm und zweimal mit 0,1 ccm kalt ausgezogen. Sehr geringer Rückstand II.

Die gelben, stark grün fluoreszierenden Lösungen werden mit Wasser auf 15 ccm verdünnt und siedend in 9 ccm 2n-Salzsäure getropft. Der gelbe Niederschlag wird auf der Zentrifuge mit Wasser bis zur beginnenden kolloidalen Auflösung gewaschen.

Ausbeute 14 mg Xanthopterincarbonensäure = 38 % d. Th., identisch mit der synthetischen Verbindung⁶⁾.

Zur Analyse wurde bei 120° i. V. getrocknet.

$C_7H_5O_4N_5$ (223,2) Ber.: C 37,67 H 2,26 N 31,38

Gef.: „ 38,26 „ 2,53 „ 30,50.

Die Rückstände I und II werden gemeinsam in 10 ccm siedenden Wassers mit 0,5 ccm 2n KOH gelöst und in 5 ccm siedende 2n HCl getropft. Ausbeute 10 mg Leukopterin = 27 % d. Th.

Hydrierung von Erythropterin

42 mg Erythropterin-Perchlorat wurden in 1 ccm Wasser mit 0,25 ccm 1,5 n NaOH gelöst und unter Wasserstoff mit Platin aus 51 mg PtO_2 geschüttelt. Nach 3 Stunden waren 2,6 ccm (1 Mol), nach 10 Stunden 4,6 ccm (1,8 Mol) H_2 aufgenommen. Die Lösung war farblos und die Aufnahme zum Stillstand gekommen.

Der Wasserstoff wurde abgepumpt und die farblose Lösung mit Sauerstoff geschüttelt. Dabei tritt alsbald die Farbe und typische Fluoreszenz des Xanthopterin-chromophors auf.

Erythropterin und o-Phenylendiamin

11 mg Erythropterin-sulfat und 18 mg o-Phenylendiamin werden in 5 ccm 0,6 n HCl aufgekocht und 45 Min. im Dampfbad gehalten. Noch warm wird abgesaugt und mit Wasser gewaschen.

⁶⁾ R. Purmann, A. 548, 284 (1941).

Ausbeute 9 mg feine violettbraune Nadelchen (90 % d. Th.), die sich wie Pterorhodin mit intensiv violetter Farbe in konz. Schwefelsäure lösen. Zur Analyse wurde die Substanz in 10 cem konz. Schwefelsäure gelöst, mit 5 cem kaltem Wasser und dann mit 30 cem warmem Wasser versetzt, und die auskristallisierten violetten Nadelchen mit Wasser und Alkohol gewaschen und über P_2O_5 im Xyloldampf getrocknet.

Gef. C 41,99 H 3,94 N 22,4 (vermutlich z. T. hydrolysiertes Sulfat)
 • Molekulares Verhältnis von C/N in Pterorhodin 1,30
 in einer Verbindung aus Erythropterin und o-Phenylendiamin 2,14
 Gef.: 2,19.

Weitere Synthesen in der Reihe des 5,6 (N)-Pyrrochinolins Über Strychnos-Alkaloide XXXI

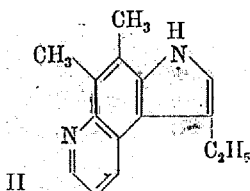
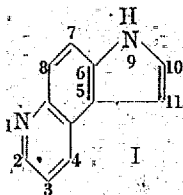
Von Rolf Huisgen

Mit 5 Figuren im Text

(Aus dem Chemischen Laboratorium der Bayerischen Akademie der Wissenschaften zu München)

[Eingelaufen am 12. Dez. 1947]

Die ausgezeichnete spektrale Übereinstimmung des Vomipyrins mit dem 5,6(N)-Pyrrochinolin (I) ermunterte trotz der Mißerfolge der ersten synthetischen Versuche¹⁾ zur Weiterarbeit auf der Grundlage dieses tricyclischen Systems, das ja auch von der damals als recht sicher betrachteten Strychninformel nach R. Robinson²⁾ gefordert wurde. Lag der Molekülrest C_2H_5 nicht in Gestalt einer Äthylgruppe in den Positionen 7 oder 8 vor, so blieb zunächst die Möglichkeit zweier Methylgruppen. Das auf dem üblichen Wege, ausgehend vom vic.o-Xylidin synthetisierte 7,8-Dimethyl-11-äthyl-5,6(N)-pyrrochinolin (II) schmilzt um 120° höher als Vomipyrin.



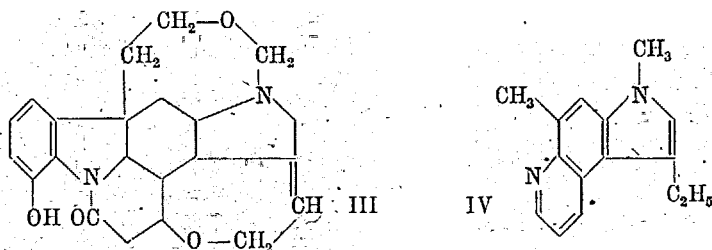
Der Nachweis von Methylimid im Vomipyrin sowie die Aufklärung der Vorstufen seiner Bildung³⁾ legten eine Einfügung des für Vomycin

¹⁾ H. Wieland und L. Horner, A. 536, 89 (1938); L. Horner, A. 540, 73 (1940).

²⁾ Soc. 1939, 603.

³⁾ H. Wieland, R. Huisgen und R. Bubenik, A. 559, 191 (1948).

charakteristischen Strukturelements $-CH_2-O-$ in das Ringgerüst des Strychnins unter Ringerverweiterung nahe, wie es Formel III als Arbeitshypothese zeigt. Für Vomipyrin würde sich die Konstitution eines 8,9-Dimethyl-11-äthyl-5,6(N)-pyrrochinolins (IV) ergeben, das ebenfalls



synthetisiert wurde. Die Einführung der N-Methylgruppe war auf der Stufe des Pyrrochinolins oder Chinolyl-6-hydrazins⁴⁾ nicht möglich wegen zu geringer Acidität des N-ständigen Wasserstoffs, gelang auf der Stufe des 6-Amino-8-methyl-chinolins über das Sulfamid. Die recht schwierige Reduktion des Nitrosamins zum sekundären Hydrazin konnte mit Aluminiumamalgam in Äther in mäßiger Ausbeute durchgeführt werden. Das Hydrazon der α -Keto-valeriansäure schließt schon mit wäßriger Salzsäure unter gleichzeitiger Abstoßung der Carboxylgruppe den Indolring zum Pyrrochinolin IV. Auf Grund der Erfahrungen über die Angliederung eines Pyrrolsystems an „naphtoide“ Bicyclen mittels der Fischer-Synthese⁵⁾ kann die angulare Anellierung in diesem Tricyclus keinem Zweifel unterliegen. IV gibt mit Vomipyrin kräftige Schmelzpunktsdepression⁶⁾ und zeigt abweichende Farbreaktionen⁷⁾.

Die Ähnlichkeit der UV-Absorption von Vomipyrin und 5,6(N)-Pyrrochinolin sowie die stark abweichenden Absorptionskurven des 5(N),6- und 7,8(N)-Pyrrochinolins¹⁾ ermutigten auch jetzt noch zur weiteren Prüfung der im gleichen tricyclischen System liegenden Möglichkeiten. Da Abbauprüfungen am Vomipyrin und Oxy-vomipyrin kein Erfolg beschieden war, blieb nur der mühevollen Weg der systematischen Alkylsubstitution des Pyrrochinolingerüsts. Ein sorgfältiger Vergleich der Indol-Farbreaktionen und des spektralen Verhaltens von

⁴⁾ Alkylierung des Phenylhydrazins über die Na-Verbindung nach Michaelis, B. 19, 2448 (1886); A. 252, 266 (1889); Titherley, Soc. 1897, 461; Crowther, Mann und Purdie, Soc. 1943, 63.

⁵⁾ R. Huisgen, A. 559, 105 u. 129 (1948).

⁶⁾ Die beim Indol beobachtete Erniedrigung des Schmp. bei N-Alkylierung tritt auch in der Pyrrochinolinreihe auf. IV schmilzt bei 90°, um 85 tiefer als die ebenfalls synthetisierte Nor-Verbindung, das 8-Methyl-11-äthyl-5,6(N)-pyrrochinolin.

⁷⁾ Als analytisches Kriterium für die N-Methylgruppe erweist sich der auch beim Vomipyrin beobachtete langsame Verlauf der Hopkins-Cole-Reaktion, die erst nach mehreren Stunden die volle Farbstärke aufweist.

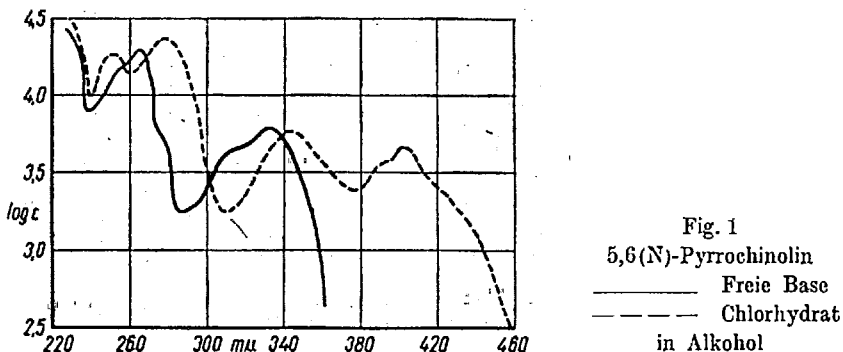
insgesamt 30 synthetischen Pyrrochinolinbasen sollte Rückschlüsse auf die Substituentenverteilung im Vomipyrin gestatten.

Methodisch bot die präparative Arbeit wenig Neues. Alkylgruppen im Benzolkern müssen in geeignet substituierten p-Nitranilinderivaten in den Synthesegang eingeführt werden. Methylsubstitution in 10 ermöglicht die Zinkchloridschmelze der Aceton-chinolyldhydrazone. Bei der Darstellung von 11-Alkylderivaten liefert die Cyclisierung der α -Ketosäure-hydrazone mit konz. Salzsäure und nachfolgende Decarboxylierung der 10-Carbonsäuren nahezu quantitative Ausbeuten. Besonders leicht sind mit der Fischer-Synthese α,β -disubstituierte Indole zugänglich; kurzes Aufkochen der Chinolyldhydrazine mit Methyläthylketon oder Cyclohexanon in Eisessig führt in vorzüglicher Ausbeute zu 10,11-Dimethyl- bzw. 10,11-Tetramethylen-derivaten. Zur Einführung von Alkyl in den Pyridinteil wechselt man den Typus der Chinolinsynthese. Die Übertragung der Döbner-v. Millerschen Synthese auf das p-Nitranil ermöglicht die Darstellung der Pyrro-chinaldine, die Synthese nach Blaise und Maire⁸⁾ die der 4-Alkyl-derivate.

Der Vergleich der Farbreaktion nach Hopkins und Cole bei den synthetischen Basen erlaubt den wichtigen Schluß, daß der Pyrrolteil des Vomipyrins unsubstituiert sein muß. Vergleichende C-Methyl-Bestimmungen in der Pyrrochinolin-Reihe sind im Experimentaltail beschrieben.

Die Lichtabsorption des 5,6(N)-Pyrrochinolins in Abhängigkeit von der Alkylsubstitution.

Mit dem Vomipyrin gemeinsam hat das 5,6(N)-Pyrrochinolin ein zweibandiges Absorptionsspektrum¹⁾. Die mehr oder minder große Verschiebung der Maxima bei Alkylsubstitution ist untypisch und diagnostisch nicht verwertbar.



⁸⁾ Bl. 3, 658 (1908); J. Kenner und F. S. Statham, Soc. 1935, 299; B. 69, 16 (1936).

Im Gegensatz zu den einfachen Ringbasen, wo die Salzbildung sich lediglich in der Extinktion auswirkt, treten wesentliche spektrale Unterschiede auf beim Übergang der Pyrrochinolinbasen in ihre Chlorhydrate: Bathochrome Verschiebung, Auftreten eines neuen Absorptionsmaximums an der Grenze des Sichtbaren und zuweilen eine Aufspaltung des kurzwelligen Maximums, wie das Beispiel des unsubstituierten 5,6(N)-Pyrrochinolins zeigt (Fig. 1).

Spektrale Unterschiede zwischen Base und Salz treten nicht erst beim dreikörnigen System, sondern schon bei Aminen der Chinolinreihe (Fig. 2) auf, sind allgemein da zu erwarten, wo mit der Salzbildung eine Änderung der mesomeren Strukturen nach Zahl, Art und Beteiligung am Grundzustand verbunden ist.

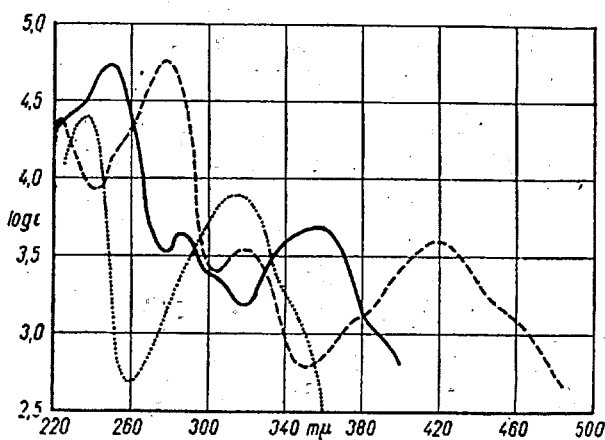


Fig. 2

6-Aminō-8-methyl-chinolin

- Freie Base (in Alkohol)
- - - Monochlorhydrat (in Alkohol)
- Lösung in 50proz. H_2SO_4

Das Absorptionsspektrum der Pyrrochinolin-salze (Fig. 3), insbesondere das für die gelbe Salzfarbe verantwortliche Maximum an der Schwelle des Sichtbaren zeigt eine überraschend hohe Abhängigkeit von der Alkylsubstitution. Beim Vomipyrin findet sich dieses Salzmaximum nur als Buckel im langwelligen Abfall angedeutet. Die colorimetrische Bestimmung der gelben Salzfarbe mittels geeigneter Farbfilter⁹⁾ ermöglicht die schnelle Erfassung des im Sichtbaren liegenden Teiles der Salzabsorption. Fig. 4 zeigt deutlich den auxochromen und

⁹⁾ S 43 S 47 und S 50 des Zeiß-Pulfrich-Photometers. Man erfaßt natürlich nicht die Extinktion am Filterschwerpunkt, sondern einen Durchschnittswert über Filterbreite. Die Werte der Tab. 1 und Fig. 4 und 5 sind nicht exakt, nur vergleichbar.

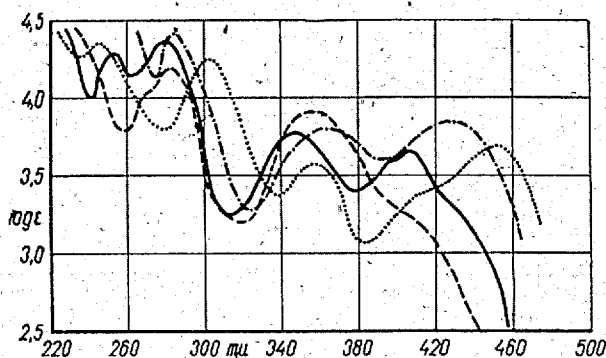


Fig. 3

Chlorhydrate in Alkohol:

- 5,6(N)-Pyrrochinolin
 8-Methyl-10,11-tetramethylen-5,6(N)-pyrrochinolin
 - · - · - 8,9-Dimethyl-11-äthyl-5,6(N)-pyrrochinolin
 - - - Vomipyrin

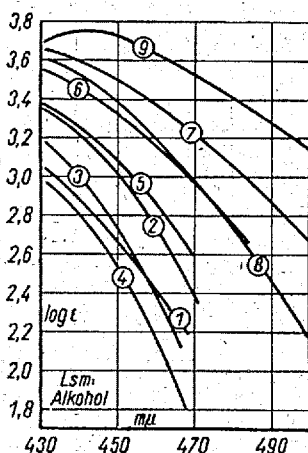


Fig. 4

Chlorhydrate von:

- (1) Vomipyrin
- (2) 5,6(N)-Pyrrochinolin
- (3) 2-Methyl-
- (4) 4-Methyl-
- (5) 7-Äthyl-
- (6) 8-Methyl-
- (7) 10-Methyl-
- (8) 11-Methyl-
- (9) 8-Methyl-10,11-tetramethylen-

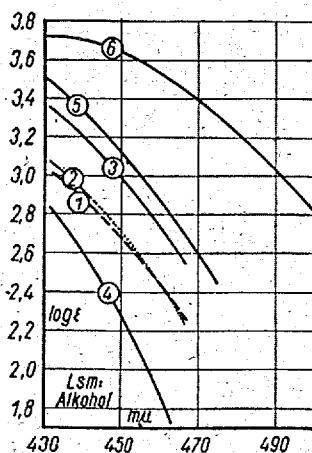


Fig. 5

- (1) Vomipyrin
- (2) Base $C_{16}H_{18}ON_2$
- (3) 5,6(N)-Pyrrochinolin
- (4) 4-Äthyl-7-methyl-
- (5) 4-Äthyl-8-methyl-
- (6) 8,9-Dimethyl-11-äthyl-

bathochromen Effekt jeder Alkylsubstitution im Benzol- oder Pyrrolteil der Molekel. Insbesondere Alkyl im Pyrrolkern verschiebt das Maximum über 420 m μ hinaus, ein Effekt, der auch bei Mehrfachalkylierung so unzweideutig ist, daß eine Äthylsubstitution der Stellung 11 für Vomipyrin nicht länger diskutabel ist.

Alkylierung des Pyridinteils führt überraschenderweise zu einer Verminderung der gelben Salzfarbe gegenüber dem unsubstituierten Stammkörper (Fig. 4 und Tab. 1). Dem 4-Äthyl-7-methyl- und 4-Äthyl-8-methyl-5,6(N)-pyrrochinolin ist das Vomipyrin in der Salzabsorption ähnlicher (Fig. 5) als allen anderen Isovomipyrynen. Der planmäßige Vergleich einer anderen optischen Eigenschaft der Pyrrochinoline gestattet aber, für das Vomipyrin eine Formel mit Alkyl im Pyridinkern auszuschließen. Die gelbgrüne UV-Fluoreszenz der Pyrrochinolin-salze

Tab. 1
Colorimetrische Bestimmung der gelben Salzfarbe

Extinktion	log ϵ 434 m μ	log ϵ 463 m μ	log ϵ 500 m μ
5,6(N)-Pyrrochinolin	3,31	2,65	
2-Methyl-	3,13	2,29	
4-Methyl-	2,93	2,04	0
7-Äthyl-	3,33	2,79	
8-Methyl-	3,52	3,11	
10-Methyl-	3,64	3,33	2,68
11-Methyl-	3,59	3,13	2,18
11-Äthyl-	3,63	3,30	2,48
2,10-Dimethyl-	3,61	3,14	2,27
4-Äthyl-7-methyl-	2,76	1,73	0
4-Äthyl-8-methyl-	3,44	2,80	0
4,10-Dimethyl-	3,51	2,87	
7,8-Dimethyl-	3,56	3,14	
7,11-Diäthyl-	3,57	3,04	2,32
8-Methyl-11-äthyl-	3,69	3,41	2,81
8,11-Diäthyl-	3,44	2,80	
10,11-Dimethyl-	3,72	3,60	3,15
10,11-Tetramethylen-	3,73	3,64	3,18
2,10,11-Trimethyl-	3,75	3,50	2,86
2-Methyl-10,11-tetramethylen-	3,78	3,54	2,97
4-Äthyl-7,10-dimethyl-	3,37	2,73	—
4-Äthyl-8,10-dimethyl-	3,64	3,31	2,46
4-Methyl-10,11-tetramethylen-	3,73	3,50	2,78
7,8,10-Trimethyl-	3,60	3,50	
7,8-Dimethyl-11-äthyl-	3,72	3,46	
8,9-Dimethyl-11-äthyl-	3,72	3,49	2,82
8,10,11-Trimethyl-	3,64	3,69	3,43
8-Methyl-10,11-tetramethylen-	3,64	3,71	3,46
7,8,10,11-Tetramethyl-	3,64	3,69	3,44
7,8-Dimethyl-10,11-tetramethylen-	3,67	3,72	3,47
Vomipyrin	2,99	2,34	
Base C ₁₆ H ₁₈ ON ₂	3,03	2,32	

wird nämlich durch Alkyl in 2 oder 4 um mehrere Zehnerpotenzen erhöht gegenüber den anderen Pyrrochinolinbasen inclusive Vomipyrin und seiner Vorstufe, der Base $C_{16}H_{18}ON_2$.

Der zunächst so bestechenden Übereinstimmung des Vomipyrins mit dem 5,6(N)-Pyrrochinolin in der UV-Absorption liegt also, wie das sorgfältige Studium der Spektraldaten eines großen Vergleichsmaterials lehrt, anscheinend kein konstitutioneller Zusammenhang zugrunde. Die sich ergebenden Zweifel an der Richtigkeit der Formelbilder für Strychnin und Vomecin wurden offenbar von anderer Seite geteilt und haben inzwischen zur Aufstellung neuer Konstitutionsformeln geführt¹⁰⁾.

Frl. Dr. F. Pruckner, TH München, danke ich bestens für die mühevolle Arbeit der Aufnahme der Absorptionsspektren.

Experimenteller Teil

7,8-Dimethyl-11-äthyl-5,6(N)-Pyrrochinolin

p-Nitro-*vic*-*o*-xylidin wird durch Nitrieren des Acet-*vic*-*o*-xylidids erhalten. Die Trennung der Isomeren erfolgt in Anlehnung an Noelting, Braun und Thesmar¹¹⁾.

24 g *vic*-*o*-Xylidin werden mit 50 ccm Eisessig 3 Stunden unter Rückfluß gekocht, dann am absteigenden Kühler 38 ccm wäßriger Essigsäure abdestilliert. Die noch heiße Lsg. wird unter lebhaftem Rühren in 150 ccm sorgfältig gekühlte konz. Schwefelsäure eingegossen. Beim Nitrieren mit 13,5 ccm Salpetersäure d 1,4 soll Temperatur stets bei -5° bleiben. Nach halbstündigem Stehen ohne Kühlung wird in 300 ccm Wasser + 100 g Eis gegossen, wobei sich die Acetylverbindung schmierig abscheidet. Nach einstündigem Erhitzen zum gelinden Sieden wird die klare braune Lsg. in Eis gestellt, worauf das Sulfat der *m*-Nitroverbindung auskristallisiert. Das Filtrat scheidet beim Verdünnen mit dem $1\frac{1}{2}$ -fachen Volumen Wasser die schwach basische *o*-Nitroverbindung in orangeroten Blättchen aus. Nach Absaugen wird mit Ammoniak übersättigt, wobei die *p*-Verbindung auskristallisiert. Ausbeute: 7,44 g = 22,5% *o*-Nitro-Verbindung, 3,38 g = 10,2% *m*-Nitro-Verbindung, 63,0% *p*-Nitro-Verbindung, bezogen auf Xylidin. *p*-Nitro-*vic*-*o*-xylidin kristallisiert aus verd. Alkohol in leuchtend gelben prismat. Stäbchen vom Schmp. 116° .

6-Nitro-7,8-dimethyl-chinolin. 19 g *p*-Nitro-xylidin, 17 g Arsensäure, 27 ccm Glycerin und 17 ccm konz. Schwefelsäure werden zu einem Brei verrührt und unter Schütteln am Steigrohr mit freier, fächernder Flamme bis zum Eintritt der Reaktion erhitzt, die sich in Dunkelfärbung und Aufschäumen kundtut. Nach Beendigung der Hauptreaktion wird noch 3 Stunden zum gelinden Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wird alkalisch gemacht, die dunkle Fällung in Chloroform eingeschüttelt. Nach Waschen und Trocknen wird an Aluminiumoxyd entfärbt, auf kleines Volumen eingengt und mit Alkohol versetzt. 13,3 g Nitrochinolin = 58% d. Th. kristallisieren aus. Aus Chloroform-Alkohol farblose, verfilzte Nadeln vom Schmp. 137° . Farbloses Chlorhydrat.

$C_{11}H_{10}N_2O_2$ (202,09) Ber. C 65,32 H 4,99
Gef. „ 65,51 „ 4,86.

6-Amino-7,8-dimethyl-chinolin wird durch Reduktion der Nitrobaze mit Zinnchlorür in halbkonz. Salzsäure erhalten. Aufarbeitung durch Eingießen der heißen

¹⁰⁾ Siehe Anm. 5–7) der folgenden Arbeit. Die Befunde wurden uns erst in der zweiten Jahreshälfte 1947 bekannt. Die vorliegende Arbeit war schon vor Kriegsende abgeschlossen.

¹¹⁾ B. 34, 2242 (1901).

Reduktionslösung in warme 40proz. Kalilauge unbeschadet der Erhitzung. Einschütteln desamins in Chloroform, Reinigung an Aluminiumoxyd. Aus wäbrigem Methanol kristallisiert das Amin mit 97proz. Ausbeute. Aus Benzol zarte farblose Blättchen vom Schmp. 163°. Gelbes Chlorhydrat.

$C_{11}H_{12}N_2$ (172,12) Ber. N 16,28 Gef. N 16,54

Das Acetylderivat schmilzt bei 222°.

6-Hydrazino-7,8-dimethyl-chinolin. 10 g Amin werden in 100 ccm konz. Salzsäure und 50 ccm Wasser gelöst und mit 4,05 g Natriumnitrit in 100 ccm Wasser diazotiert. Die gelbe Diazoniumlösung wird in die eiskalte Lösung von 40 g Zinnchlorür in 40 ccm konz. Salzsäure und 600 ccm Wasser eingegossen und einige Stunden bei Raumtemp. belassen. Nach Verdünnen mit gleichem Volumen Wasser wird in der Siedehitze mit H_2S entzint. Beim Eindampfen i. V. zur Trockne scheidet sich das Hydrazin-chlorhydrat in gelben Kristallkrusten aus, die durch Digerieren mit 50proz. Methanol vom Kochsalz befreit werden. Die wäßrige Lsg. des Chlorhydrats reduziert Fehling'sche Lösung, bleibt auf Zusatz von Natriumacetat völlig klar. Mit Ammoniak wird das freie Hydrazin gefällt, das aus Methanol in farblosen Nadeln vom Schmp. 149° und Rotfärbung erhalten wird. Die freie Base zeigt den typischen Geruch der Chinolylhydrazine.

Das Hydrazon der α -Ketovaleriansäure wird durch Versetzen der wäßrigen Lösung des Hydrazin-chlorhydrats mit frisch dest. Ketovaleriansäure und Abstumpfen mit Natriumacetat erhalten. Das gelbe Hydrazon schmilzt bei 201° u. Zers.

Cyclisierung mit Zinkchlorid. 4 g Hydrazon werden in 12 g Zinkchlorid bei 210° eingetragen. Die zähe rote Schmelze entwickelt bei 230° Kohlendioxyd, wird noch 20 Minuten auf 260° erhitzt. Beim Digerieren der erkalteten Schmelze mit Wasser wird ein flockiges Chlorozinkat gefällt. Ohne dessen Isolierung wird mit Ammoniak übersättigt, mit Chloroform ausgezogen. Die getrocknete und gewaschene Chloroformlösung wird an einer kurzen Al_2O_3 -Säule entfärbt, eingengt, mit Aceton versetzt. Unter Aufarbeitung der Mutterlauge 1,14 g farblose seidige Nadeln vom Schmp. 214°, 36 % d. Th. Umkristallisierbar aus Aceton.

$C_{15}H_{16}N_2$ (224,15) Ber. C 80,30 H 7,19 N 12,50

Gef. „ 80,49 „ 7,21 „ 12,29.

Das 7,8-Dimethyl-11-äthyl-pyrrochinolin sublimiert im HV gegen 140°, zeigt in Acetonlösung blaue UV-Fluorescenz. Hopkins-Cole-Reaktion siehe Seite 190. Der mit Salzsäure befeuchtete Fichtenspan wird grün gefärbt. Mit Ehrlichs Reagens keine Färbung. Das Chlorhydrat kristallisiert in orangeroten Nadeln.

Tetrahydropyridderivat. 0,5 g Base werden in 30 ccm Amylalkohol mit 2,8 g Natrium in kleinen Anteilen reduziert. Noch warm wird mit Wasser versetzt, der Amylalkohol mit Wasserdampf abgeblasen, mit Äther ausgezogen. Der Ätherlösung werden mit 2n-Salzsäure die basischen Anteile entzogen. Die freie Tetrahydro-pyrrochinolinbase geht im HV bei 130° Badtemp. als hellgelbes Öl über, das keine Kristallisationsneigung zeigt. Auf Zusatz von alkohol. Salzsäure zur Alkohollösung kristallisiert das farblose Chlorhydrat, das bei 315° unter Rotfärbung schmilzt. Die Farblosigkeit des Salzes zeigt, daß mit der Hydrierung des Pyridinkerns die chromophoren Eigenschaften verschwinden. Hopkins-Cole-Reaktion kräftig weinrot.

8,9-Dimethyl-11-äthyl-5,6(N)-pyrrochinolin

6-Nitro-8-methyl-chinolin wird aus 3-Nitro-6-amino-toluol mit Hilfe der Skraup'schen Synthese wie oben erhalten. Zweckmäßige Aufarbeitung: Die mit dem doppelten

Volumen Wasser versetzte Reaktionslösung scheidet über Nacht Schmierien ab, von denen abgegossen wird. Das beim Alkalischemachen körnig ausfallende Nitrochinolin wird in 5n-Salzsäure gelöst und mit Tierkohle gekocht. Die filtrierte Lösung wird in der Wärme durch vorsichtigen Ammoniakzusatz auf pH 4,5–6 gebracht, wobei die schwach gelbbraun gefärbte Nitrobase auskristallisiert. Stark färbende Begleit-substanzen bleiben in der Mutterlauge. Aus Äthanol farblose verfilzte Nadeln vom Schmp 127–128°. Ausbeute an umkrist. Produkt 66% d. Th.

$C_{10}H_8N_2O_2$ (188,08) Ber. N 14,90 Gef. N 14,80.

6-Amino-8-methyl-chinolin. 30 g Nitrobase werden portionsweise in Lsg. von 140 g Zinnchlorür in 270 ccm halbkonz. Salzsäure eingetragen, wobei unter Selbst-erwärmung und Rotfärbung Reduktion stattfindet. Beim Einrühren der noch 1 Stunde auf dem Dampfbad erhitzten Lösung in überschüssige starke Kalilauge scheidet sich das Amin kristallin ab. Zur Entfernung kleiner Mengen ungelöster Zinnsäure wird noch einmal in 2n-Salzsäure gelöst und mit Alkali ausgefällt. Ausbeute 95% d. Th. Aus Benzol farblose Prismen vom Schmp. 125°.

$C_{10}H_{10}N_2$ (185,1) Ber. N 17,72 Gef. N 17,66.

6-(p-Toluolsulfamino)-8-methyl-chinolin. 10 g 6-Amino-8-methyl-chinolin und 12,5 g p-Toluolsulfochlorid werden in 30 ccm trockenem Pyridin 20 Minuten gekocht. Nach Entfernen des überschüssigen Lösungsmittels i. V. wird der zähflüssige Rückstand mit verd. Salzsäure digeriert, wobei er zum Kristallbrei erstarrt, der scharf abgesaugt, ausgewaschen und getrocknet wird. 21,4 g = 97% d. Th. am Chlorhydrat des Sulfamids. Mit der berechneten Menge Alkali wird das Sulfamid in Freiheit gesetzt, das nach Umkristallisieren aus Alkohol bei 101° schmilzt.

6-(p-Toluol-sulfonyl-N-methyl-amino)-8-methyl-chinolin. 21,4 g Sulfamid-chlorhydrat werden in 70 ccm warmer 2n-Natronlauge (2,2 Äquiv.) gelöst, dann bei 0°, später bei Raumtemp. mit 7 ccm Dimethylsulfat auf der Maschine geschüttelt. Das abgeschiedene alkali-unlösliche Methylierungsprodukt wird mit Natronlauge, dann mit Wasser gewaschen, nach dem Trocknen aus Alkohol umgelöst. Die farblosen Kristalle verwittern an der Luft und schmelzen bei 112°. Ausbeute 93% d. Th.

$C_{18}H_{18}N_2O_2S$ (326,24) Ber. C 66,21 H 5,56
Gef. „ 66,51 „ 5,70.

6-Methylamino-8-methyl-chinolin. 18,6 g des methylierten Sulfamids werden mit 55 ccm 85proz. Schwefelsäure 2 Stunden auf 135° erhitzt, dann auf Eis gegossen. Nach Alkalisieren wird in Chloroform aufgenommen, der Extrakt an Al_2O_3 entfärbt und eingengt. Die Base geht bei 110°/0,1 mm als blaßgelbes viskoses Öl über, das keinerlei Kristallisationstendenz zeigt und mit den üblichen Solventien mischbar ist. Das in viel Wasser emulgierte Öl kristallisiert beim Anreiben in verfilzten Nadeln durch. Es handelt sich um ein Hydrat, das schon beim Liegen an der Luft, schneller im Exsikkator das Wasser wieder abgibt und sich in die ölige Base zurückverwandelt.

6-Nitroso-methyl-amino-8-methyl-chinolin wird beim Behandeln des sekundären Amins mit Natriumnitrit in verd. salzsaurer Lösung erhalten. Sobald Kaliumjodid-stärkepapier gebläut wird, macht man alkalisch und nimmt in Chloroform auf. Der Rückstand der Chloroformlösung kristallisiert aus 90proz. Alkohol in lachsroten Tafeln. Die färbende Verunreinigung kann durch Destillation entfernt werden, wobei das Nitrosamin bei 140° und 0,1 mm Druck als blaßgelbes Öl übergeht, das kristallin erstarrt. Schmp. 88°. Ausbeute über 95%. Liebermann-Reaktion tiefrot, bald in blau umschlagend.

$C_{11}H_{11}N_3O$ (201,11) Ber. C 65,64 H 5,51
Gef. „ 65,89 „ 5,46.

Die Spaltung des Nitrosamins mit Cuprochlorid in kalter Salzsäure liefert glatt das sekundäre Amin zurück.

6-N-Methyl-hydrazino-8-methyl-chinolin. Die Reduktion des Nitrosamins mit Zinkstaub in Essigsäure, mit Hydrosulfit in Eisessig, mit Schwefeldioxyd und Zink-

staub in Eisessig oder wäßriger Essigsäure, mit Magnesiumpulver in Alkohol und wenig Essigsäure führte stets zu einem autoxydablen Reaktionsprodukt ohne reduzierende Eigenschaften gegenüber Fehlingscher Lösung. Ammoniumsulfid greift überhaupt nicht an; Zinnchlorür spaltet unter allen Bedingungen die Nitrosaminbindung und liefert das sekundäre Amin.

4 g reines Nitrosamin werden in 250 ccm Äther gelöst, mit Aluminiumamalgam aus 10 g Al-spänen versetzt. Die unter Stickstoff vorgenommene Reduktion muß anfangs durch Einstellen in kaltes Wasser gemäßigt werden. Unter ständigem Schütteln alle Viertelstunde einige Tropfen Wasser zufügen. Nach 4 Stunden ist die Reaktion beendet, wie die negative Reaktion mit Diphenylamin-Schwefelsäure zeigt. Der Aluminiumhydroxyd-schlamm wird ausgewaschen, die Filtrate eingeeengt und im HV destilliert. Bei 90° beginnt sekundäres Amin überzugehen, schon mit Hydrazin verunreinigt, wie das Reduktionsvermögen gegenüber Fehlingscher Lösung zeigt. Das Destillat bei 160° wird in 2n-Salzsäure aufgenommen, die rote Lösung i. V. zur Trockne gebracht. Nach Aufnehmen in wenig siedendem Methanol kristallisiert das Chlorhydrat des sekundären Hydrazins aus. Aus der Mutterlauge können erhebliche Mengen sekundäres Amin zurückgewonnen werden. Die Aufarbeitung des methanolischen Auszugs des Aluminiumhydroxydschlammes nach gleichem Verfahren ist lohnend. Ausbeute an Hydrazinchlorhydrat ist schwankend, beträgt maximal 8% d. Th.

Die Hydrolysentrennung von stark und schwach basischen Anteilen versagt, da bei der Fällung mit Natriumacetat stark basische Anteile stets mit in den Niederschlag gerissen werden. Für die Hydrazin-Ausbeute entscheidend ist vor allem die schnelle Durchführung der Reduktion.

Das Hydrazon der α -Ketovaleriansäure, auf die übliche Weise hergestellt, ist gelb und schmilzt bei 220° unter Gasentwicklung. Das orangefarbene Chlorhydrat ist schwer löslich in Wasser.

Indolringschluß. Die Zinkchloridschmelze führt zu einem stark verschmierten Produkt, aus dem mit Pikrinsäure eine bescheidene Menge des Pyrrochinolins gefällt werden kann. Ungleich geeigneter ist die Cyclisierung mit Salzsäure.

137 mg Hydrazon werden in 3 ccm konz. Salzsäure erwärmt; das sich zunächst ausscheidende Chlorhydrat geht bald in Lösung. Nach 5 Minuten Kochen wird die klare Lösung im Vakuumexsikkator über Ätzkali zur Trockne gebracht. Das zurückbleibende orangefarbene kristalline Chlorhydrat wird mit Ammoniak zerlegt, die Base durch HV-Destillation gereinigt. Bei 110–120° Badtemp. geht farbloses Öl über, das völlig kristallin erstarrt. Ausbeute 99 mg = 92% d. Th. Nach mehrfachem Umlösen aus Äther-Petroläther liegt der Schmp. bei 90°. Die Mischung mit Vomipyrin sintert bei 63°, schmilzt bei 70°.

$C_{15}H_{16}N_2$ (224,15)	Ber. C 80,30	H 7,19	N 12,50	NCH_3 12,9
	Gef. „ 80,57	„ 7,35	„ 12,65	„ 10,7.

Bei der Darstellung einer großen Zahl weiterer Pyrrochinolinabkömmlinge wurde stets der Pyrrolring wie bisher mit Hilfe der Fischer'schen Synthese angegliedert. Zur Vermeidung von Überschneidungen seien zunächst die Synthesen der noch nicht bekannten Hydrazinochinoline beschrieben, dann deren Cyclisierung zu Abkömmlingen des 5,6(N)-Pyrrochinolins.

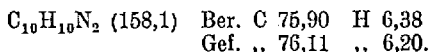
Synthese von Chinolyl-hydrazinen

2-Methyl-6-hydrazinochinolin

6-Nitro-2-methyl-chinolin wird durch Chinaldinisierung des p-Nitranilins dargestellt. Eine Abtrennung überschüssigen Amins erübrigt sich. 20 g p-Nitranilin werden mit 20 ccm frisch dest. Paraldehyd und teilweise mit 32 ccm konz. Salzsäure versetzt. Das Amin geht unter Selbsterwärmung in Lösung; die klare Lösung

trübt sich, wobei der Geruch des Crotonaldehyds auftritt. Reaktion durch Einstellen in kaltes Wasser mäßigen. Nach Beendigung der Umsetzung durch zweistündiges Rückflußkochen wird in Überschuß eiskühlten Ammoniaks eingegossen. Die dunkle Fällung wird abgesaugt und mit 200 ccm 3*n*-Salzsäure aufgekocht, wobei sich schwarze Schmierer abscheiden, von denen abgegossen wird. Die mit Tierkohle gekochte Lösung wird erneut ammoniakalisch gemacht und mit Chloroform ausgezogen. Die auch nach Passieren einer Aluminiumoxyd-Säule noch gefärbte Lösung hinterläßt beim Eindampfen einen kristallinen Rückstand, aus dem mit wenig kaltem Methanol die schwarzbraunen Schmierer herausgelöst werden können. Nach mehrfachem Waschen mit Methanol bleiben 10,8 g recht reine Kristalle zurück. Aus den Mutterlauge durch mehrfaches Umlösen noch 0,9 g. Wiederholte Kristallisation aus 80proz. Methanol führt zu farblosen Nadeln vom Schmp. 165°. Ausbeute 43 %. Ein Zusatz von Arsensäure als Oxydationsmittel hat keine Ausbeuteverbesserung zur Folge.

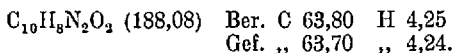
6-Amino-2-methyl-chinolin entsteht bei der Reduktion des Nitrokörpers mit Zinnchlorür in Salzsäure in der üblichen Weise. Das Amin besitzt eine ungewöhnliche Kristallisationstendenz. Die Chloroformlösung darf nicht zu stark eingeeengt werden, da sonst explosionsartig Kristallisation einsetzt. Aus 60proz. Alkohol in derben, zentimeterlangen Spießen vom Schmp. 187°.



Die Überführung in das 6-Hydrazino-2-methyl-chinolin erfolgt in der üblichen Weise. Das in Wasser leicht lösliche Chlorhydrat des Hydrazins ist blaßgelb gefärbt. Die farblosen Nadeln der freien Base schmelzen bei 156°.

4-Methyl-6-hydrazino-chinolin

6-Nitro-4-methyl-chinolin. Das benötigte β -Chloräthyl-methyl-keton wird in Anlehnung an das Schering-Kahlbaum-Patent C. 1929, I. 143 durch Addition von Acetylchlorid an Äthylen in Gegenwart von AlCl_3 dargestellt. 8,5 g p-Nitranilin, 5 ccm abs. Alkohol, 3 g 1-Chlorbutanon-(3) und 10 g Zinntetrachlorid-trihydrat werden gemischt und unter Wasserabschluß 3 Stunden auf siedendem Wasserbad erwärmt. Die dunkelrote Reaktionslösung wird in einen Überschuß 30proz. Natronlauge eingegossen. Die abgesaugte graugrüne Fällung wird in 3*n*-Salzsäure mit Tierkohle aufgekocht, von dunklem Harz abfiltriert, alkalisch gemacht und mit Chloroform durchgeschüttelt. Der größte Teil des überschüssigen p-Nitranilins bleibt dabei ungelöst. Der Rückstand der eingedampften Chloroformlösung wird mit 20 ccm Acetanhydrid 10 Minuten gekocht, der Überschuß i. V. abgezogen. Beim Ausziehen mit 3*n*-Salzsäure bleibt Acetyl-p-nitranilin ungelöst. Der salzsaure Auszug wird mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet, der Chloroformextrakt an Al_2O_3 gereinigt und eingeeengt. Als Alkohol nahezu farblose Spieße vom Schmp. 130°. Unter Aufarbeitung der Mutterlauge 1,82 g, entsprechend 31 % d. Th., bezogen auf das Chlorketon. Farbloses Chlorhydrat.



6-Amino-4-methyl-chinolin. Aus 50proz. Methanol farblose Stäbchen vom Schmp. 171°. Gelbes Chlorhydrat. Das wie üblich hergestellte 6-Hydrazino-4-methyl-chinolin kristallisiert in farblosen Nadeln vom Schmp. 146°. Das Chlorhydrat ist nur schwach gelblich gefärbt.

6-Hydrazino-4-äthyl-8-methyl-chinolin

β -Chloräthyl-äthyl-keton. 80 g feingepulvertes AlCl_3 werden mit 60 ccm frisch dest. Schwefelkohlenstoff versetzt. Nach Zusatz von 45 g Propionylchlorid wird in die lebhaft turbinierte breiige Mischung unter Kühlung mit Eis-Kochsalz Äthylen eingeleitet, wobei das Reaktionsgemisch leichtflüssig wird. Nach Einleiten des Doppelten der theoretischen Äthylenmenge wird mit Eis zersetzt und mit Äther durch-

geschüttelt. Der Extrakt wird mit Bicarbonat entsäuert, getrocknet, auf dem Wasserbad eingengt, der Rückstand i. V. destilliert, wobei 11,4 g des Chlorketons bei 65°/22 mm übergehen.

6-Nitro-4-äthyl-8-methyl-chinolin. 9 g Nitro-toluidin ($\text{CH}_3\text{NH}_2\text{NO}_2 = 1:2:5$), 7,5 g Zinn-tetrachlorid-trihydrat werden mit 3 ccm abs. Alkohol und 3 g 1-Chlor-pentanon-(3) zunächst 2 Stunden auf 100°, dann weitere 2 Stunden auf 130° erhitzt. Noch heiß wird mit 20 ccm siedender halbkonz. Salzsäure digeriert, in Kalilauge eingegossen, die Fällung in 100 ccm 4n-Salzsäure aufgeköcht, von schwarzen Schmierungen abgössen, mit Tierkohle behandelt und mit Ammoniak ausgefällt. Das überschüssige Nitrotoluidin wird durch Acetylierung entfernt. Dazu wird 1 Stunde mit 35 ccm Acetanhydrid gekocht, der Überschuß i. V. abdestilliert, der zähe braune Rückstand in Chloroform aufgenommen. Nach einigem Stehen wird die vom auskristallisierten Acetyl-derivat abgesaugte Chloroformlösung mit 3n-Salzsäure ausgeschüttelt, der saure Extrakt wieder mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet. Aus Methanol kristallisiert das Nitrochinolinderivat in derben Blöckchen: 2,14 g = 39% d. Th. bez. auf Chlorketon. Schmp. 129°.

$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ (216,12) Ber. C 66,63 H 5,60
Gef. „ 66,62 „ 6,12.

6-Amino-4-äthyl-8-methyl-chinolin wird bei der Zinnchlorür-Reduktion in 95proz. Ausbeute erhalten. Farblose Nadeln vom Schmp. 145°. Das Diazoniumsalz wird mit Zinnchlorür zum **6-Hydrazino-4-äthyl-8-methyl-chinolin** reduziert, das als blaß orange gefärbtes Chlorhydrat anfällt.

6-Hydrazino-4-äthyl-7-methyl-chinolin

6-Nitro-4-äthyl-7-methyl-chinolin wird aus 2-Nitro-5-amino-toluol wie oben dargestellt, wobei die Ausbeute 18% beträgt. Aus Methanol farblose Nadeln vom Schmp. 117°.

$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ (216,12) Ber. C 66,63 H 5,60
Gef. „ 66,92 „ 5,45.

6-Amino-4-äthyl-7-methyl-chinolin aus Methanol. Schmp. 162°.

6-Hydrazino-4-äthyl-7-methyl-chinolin. Die bei den 4-Alkyl-pyrrochinolinen beobachtete geringe gelbe Salzfarbe wird auch schon beim Hydrazinsalz konstatiert, das nur noch blaßgelblich und in überschüssiger Salzsäure schwerlöslich ist. Das Chlorhydrat zersetzt sich gegen 260°. Schmp. der freien Hydrazinbase 176°.

6-Hydrazino-8-methyl-chinolin

6-Hydrazino-8-methyl-chinolin wird aus dem S. 182 beschriebenen Amin wie üblich gewonnen. Orangegelbes Chlorhydrat. Das freie Hydrazin kann aus viel Benzol umgelöst werden zu Nadeln vom Schmp. 141°.

Indolringschluß mit Hilfe der Fischerschen Synthese

A) **Ringschluß zum 10,11-unsubstituierten 5,6(N)-Pyrrochinolin** bewirkt man durch Cyclisierung des Brenztraubensäureester-hydrazons in der Zinkchloridschmelze.

7,8-Dimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Brenztraubensäure-hydrazon: Die warme wäßrige Lösung des Chlorhydrats des 6-Hydrazino-7,8-dimethyl-chinolins wird mit überschüssiger Brenztraubensäure versetzt, nach kurzem Stehen mit Natriumacetat das Hydrazon ausgefällt. Orangerote Nadeln, die gegen 200° unter Gasentwicklung schmelzen.

Esterhydrazon. 1,5 g trocknes Hydrazon werden in 15 ccm abs. Alkohol suspendiert, nach Zusatz von 1 ccm Schwefelsäure unter Rückfluß gekocht, wobei das

Hydrazon im Laufe von 2 Stunden in Lösung geht. Das zitronengelbe Sulfat des Esterhydrazons wird abgesaugt und mit Ammoniak zerlegt. Schmp. 104°. Ausbeute 80% d. Th.

Ringschluß. Das trockene Esterhydrazon wird portionsweise eingetragen in das 4fache Gewicht frisch entwässerten, feingepulverten, auf 180° erhitzten Zinkchlorids, wobei eine orangefarbene Schmelze resultiert. Bei 230° setzt die Reaktion ein, die sich in Abspaltung von CO₂ und Äthylen kundtut. Die Badtemperatur wird innerhalb einer Stunde auf 270° gesteigert. Die erkaltete Schmelze wird mit Wasser verrieben, mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet. Aus sehr wenig Aceton kristallisiert die Pyrrochinolinbase in farblosen Polyedern vom Schmp. 187°.

C₁₃H₁₂N₂ (196,1) Ber. C 79,58 H 6,12 N 14,28
Gef. „ 79,42 „ 5,83 „ 14,78.

Völlig analog werden hergestellt:

8-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin kristallisiert aus kleinem Volumen Aceton in farblosen wetzsteinförmigen Kristallen vom Schmp. 185°.

C₁₂H₁₀N₂ (182,1) Ber. N 15,41 Gef. N 15,67.

2-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Aus wenig Aceton an den Enden verdickte Stäbchen, die bei 220° schmelzen. Ausbeute bei der Cyclisierung 58% d. Th.

C₁₂H₁₀N₂ (182,1) Ber. C 79,08 H 5,54
Gef. „ 79,35 „ 5,62.

4-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Umkristallisierbar aus wenig Aceton zu farblosen Polyedern vom Schmp. 228°.

C₁₂H₁₀N₂ (182,1) Ber. C 79,08 H 5,54
Gef. „ 79,41 „ 5,81.

4-Äthyl-7-methyl-5,6(N)-pyrrochinolin wird bei der Cyclisierung mit 78% Ausbeute erhalten. Aus Aceton-Chloroform farblose, verfilzte Nadeln vom Schmp. 217°. Das Chlorhydrat kristallisiert aus Methanol-Aceton in hellgelben Nadeln.

C₁₄H₁₄N₂ (210,13) Ber. C 79,95 H 6,71
Gef. „ 80,48 „ 7,00.

4-Äthyl-8-methyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Aus Aceton farblose Stäbchen vom Schmp. 166°.

C₁₄H₁₄N₂ (210,13) Ber. C 79,95 H 6,71
Gef. „ 80,06 „ 6,79.

B) Ringschluß zum 10-substituierten Pyrrochinolin-Derivat wird durch Zinkchloridschmelze des Aceton-hydrazons erzielt.

10-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Das Chlorhydrat des 6-Hydrazinochinolins wird in wäßriger Lösung mit Aceton umgesetzt. Auf Natriumacetatzusatz hin scheidet sich das schwach gelbe Hydrazon aus. Schmp. 161°. 1 g trockenes Hydrazon werden mit 4,5 g frisch entwässertem und gepulvertem Zinkchlorid bei 180° verrieben. Die Schmelze wird im Laufe einer Stunde auf 270° erhitzt, diese Temp. 30 Minuten gehalten. Aufarbeitung mit Ammoniak-Chloroform. Die an einer kurzen Al₂O₃-Säule gereinigte Lösung hinterläßt einen kristallinen Eindampfrückstand, der aus kleinem Volumen Aceton zu farblosen Polyedern vom Schmp. 198° umkristallisiert wird.

C₁₂H₁₀N₂ (182,1) Ber. C 79,08 H 5,54
Gef. „ 79,13 „ 5,50.

2,10-Dimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin wird aus Aceton-Benzol kristallisiert. Schmp. 166°. Das in Wasser schwer lösliche Chlorhydrat kristallisiert in goldgelben seidigen Nadeln.

4,10-Dimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Aus Aceton-Wasser in farblosen Polyedern vom Schmp. 207°.

7,8,10-Trimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin wird aus wenig Methanol in farblosen Blättchen erhalten, die bei 177—178° schmelzen.

$C_{14}H_{14}N_2$ (210,13) Ber. C 79,95 H 6,71
Gef. „ 80,06 „ 6,58.

4-Äthyl-7,10-dimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Aus Aceton-Äther farblose Nadeln vom Schmp. 182°.

4-Äthyl-8,10-dimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin kristallisiert aus Aceton-Äther in farblosen zarten Blättchen vom Schmp. 196°.

$C_{15}H_{16}N_2$ (224,15) Ber. C 80,30 H 7,19
Gef. „ 80,68 „ 6,96.

C) Ringschluß zum 11-substituierten Pyrrochinolin-Derivat. Die Cyclisierung der Hydrazone der α -Ketosäuren verläuft mit wäßriger Salzsäure wesentlich sauberer und mit besseren Ausbeuten als die Chlorzinkschmelze.

11-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Aus Chinolyl-6-hydrazin und α -Ketobuttersäure wird ein orangefarbenes Hydrazon vom Schmp. 190° u. Zers. erhalten. 1 g Hydrazon wird mit 5 ccm konz. Salzsäure übergossen. Das zunächst ausfallende gelbe Hydrazon-chlorhydrat geht beim gelinden Erwärmen in Lösung. Nach 10 Minuten Wasserbad ist die Lösung zu einem Brei gelber, seidiger Nadeln erstarrt. Der größte Teil der Salzsäure wird aus siedendem Wasserbad abgedampft. Dann wird in 70 ccm kochendem Wasser aufgenommen und mit Natriumacetat versetzt. 0,87 g = 94 % d. Th. der in allen Lösungsmitteln schwer löslichen Pyrrochinolin-carbonsäure fallen mikrokristallin aus. Schmp. 265°. Die Decarboxylierung wird durch Erhitzen im Wasserstrahlvakuum auf 250° vorgenommen. Temp. nicht über 260° steigern, da die Reaktion nach dem Schmelzen der Carbonsäure zu heftig wird. Die Substanz befindet sich in einer kleinen Retorte; im Zuge der Decarboxylierung geht die Base als farbloses, kristallin erstarrendes Öl über. Die Ausbeute ist quantitativ. Das Destillat wird aus Aceton umgelöst zu farblosen, derben Spießen vom Schmp. 196°.

$C_{12}H_{10}N_2$ (182,1) Ber. C 79,08 H 5,54
Gef. „ 79,38 „ 5,26.

8-Methyl-11-äthyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Das 8-Methyl-chinolyl-6-hydrazon der α -Ketovaleriansäure ist orangefarben und schmilzt gegen 200° u. Zers. Die Cyclisierung mit Salzsäure wie oben führt zur 8-Methyl-11-äthyl-pyrrochinolin-10-carbonsäure, die aus viel Methanol zu farblosen Nadeln vom Schmp. 243° umgelöst wird.

$C_{15}H_{14}N_2O_2$ (254,13) Ber. C 70,83 H 5,55
Gef. „ 71,10 „ 5,63.

Decarboxylierung durch Destillation bei 240°/12 mm. Aus wenig Methanol farblose, bei 175° schmelzende Polyeder.

$C_{14}H_{14}N_2$ (210,13) Ber. C 79,95 H 6,71 N 13,33
Gef. „ 80,00 „ 6,73 „ 13,37.

D) Ringschluß zum 10,11-disubstituierten Pyrrochinolin-Derivat. Die Cyclisierung der Hydrazone von Ketonen des Typs Cyclohexanon oder Methyl-äthyl-keton erfolgt sehr leicht mit den verschiedensten Kondensationsmitteln: mit Mineralsäure, mit Eisessig, mit katalytischen Mengen Nickelchlorid usf. Eine Übersicht über die Methoden zur Darstellung des

8-Methyl-10,11-tetramethylen-5,6(N)-pyrrochinolins ist an anderer Stelle¹²⁾ gegeben. Am vorteilhaftesten ist die Eisessig-Methode.

10,11-Tetramethylen-5,6(N)-pyrrochinolin. 1 g 6-Hydrazino-chinolin-chlorhydrat werden mit 3 ccm Eisessig und 1 ccm Cyclohexanon zum Sieden erhitzt. Nach sechsstündigem Kochen haben sich rote Kristallkrusten ausgeschieden, die nach dem Erkalten abgesaugt und in viel warmem Wasser gelöst werden. Die mit Ammoniak ausgefüllte Base wird in Chloroform aufgenommen, die gewaschene und getrocknete Chloroformlösung an Aluminiumoxyd entfärbt und eingengt. Aus Aceton glasklare Polyeder vom Schmp. 202°. Ausbeute 70 % d. Th. Rotes Chlorhydrat.

$C_{15}H_{14}N_2$ (222,13) Ber. C 81,03 H 6,35
Gef. „ 81,34 „ 6,62.

10,11-Dimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin, analog dargestellt unter Ersatz des Cyclohexanons durch Methyl-äthyl-keton, kristallisiert aus wenig Aceton in farblosen Nadeln vom Schmp. 224°.

7,8-Dimethyl-10,11-tetramethylen-5,6(N)-pyrrochinolin wird aus dem bei 135° schmelzenden 7,8-Dimethyl-chinolyl-6-hydrazon des Cyclohexanons in der Zinkchloridschmelze mit 73proz. Ausbeute gebildet. Etwa ebenso ergiebig ist das Eisessigverfahren. Nach Umlösen aus Alkohol Schmp. 239°. Rotes Chlorhydrat.

$C_{17}H_{18}N_2$ (250,2) Ber. C 81,53 H 7,25 N 11,20
Gef. „ 81,53 „ 7,10 „ 11,04.

Zu Vergleichszwecken wurde die Substanz mit Palladium bei 250° zum Pyridocarbazol-derivat dehydriert. Die Farbintensität des Chlorhydrats ist geringer als die des Tetrahydroderivats. Das Dimethyl-pyrido-carbazol wird aus Methanol umgelöst zu farblosen Nadeln vom Schmp. 271°.

$C_{17}H_{14}N_2$ (246,15) Ber. C 82,88 H 5,73
Gef. „ 82,59 „ 5,59.

7,8,10,11-Tetramethyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Nach dem Eisessigverfahren mit 91 % Ausbeute erhalten. Farblose Nadeln aus Alkohol. Schmp. 201°.

2-Methyl-10,11-tetramethylen-5,6(N)-pyrrochinolin. Schmp. 211°.

$C_{16}H_{16}N_2$ (236,15) Ber. C 81,30 H 6,83
Gef. „ 81,45 „ 6,78.

2,10,11-Trimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin. Aus Aceton-Wasser farblose Kristalle. vom Schmp. 186°.

4-Methyl-10,11-tetramethylen-5,6(N)-pyrrochinolin. Umlösen aus 80proz. Methanol zu farblosen Nadeln vom Schmp. 220°.

$C_{15}H_{14}N_2$ (236,15) Ber. C 81,30 H 6,83
Gef. „ 81,58 „ 6,54.

8,10,11-Trimethyl-5,6(N)-pyrrochinolin wird aus Alkohol umgelöst und schmilzt bei 188°.

$C_{14}H_{14}N_2$ (210,12) Ber. N 13,33 Gef. N 13,33.

C-Methyl-Bestimmungen in der Pyrrochinolinreihe¹³⁾ wurden ausgeführt mit dem Ziel, Aussagen zu ermöglichen über die Verteilung der Substituenten auf die verschiedenen Kerne im Vompurin. Auf Grund der Oxydationsempfindlichkeit des Pyrrolringes war

¹²⁾ A. 559, 144 (1948).

¹³⁾ Methode nach R. Kuhn u. F. L'Orsa, Ang. 44, 847 (1931); R. Kuhn u. H. Roth, B. 66, 1274 (1933). Dem KWI. für medizinische Forschung in Heidelberg bin ich für die Ausführung der Bestimmungen zu Dank verpflichtet.

zu erwarten, daß bei der Chromsäure-Schwefelsäure-Oxydation zuerst der Kern aufgespalten würde, Methyl im Pyrrolkern folglich recht hohe Essigsäurewerte lieferte. Methyl am Benzol- oder Pyridinkern sollte der Oxydation anheimfallen. Toluol wird vornehmlich zu Benzoesäure, Picolin zu Picolinsäure oxydiert. Für Äthylsubstitution sind ähnliche Ergebnisse zu erwarten wie für Methyl; Äthylbenzol wird über Acetophenon zu Benzoesäure oxydiert. Noch größere Alkylsubstituenten dürften in jedem Fall große Mengen Essigsäure liefern.

	mg Substanz	ccm n/100 NaOH	% von 1 Mol Essigsäure
2-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin	13,524	3,27	44,0
	14,394	3,53	44,7
	13,530	3,63	48,9
8-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin	15,324	0,433	5,2
	14,941	0,417	5,1
10-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin	13,464	5,19	70,2
	10,758	4,12	69,9
11-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin	16,775	6,53	70,9
	11,527	4,30	68,0
7,11-Diäthyl-5,6(N)-pyrrochinolin . . .	12,967	9,92	171,5
	7,933	5,95	168,0

Unvorhergesehen und überraschend ist die Tatsache, daß Methyl am Pyridinkern (2-Methyl-) mehr Essigsäure liefert als am Benzolkern (8-Methyl-). Der hohe Wert für das 7,11-Diäthyl-Derivat lehrt, daß Äthyl und Methyl nicht in Parallele gesetzt werden dürfen; Anscheinend liefert der Typus des Arylmethyl-ketons in Nebenreaktion auch Essigsäure bei der Weiteroxydation. Auf Grund des oben Gesagten ist die Aufteilung der 170% nicht gleichmäßig auf beide Äthylgruppen vorzunehmen; vermutlich liefert 11-Äthyl mehr als 7-Äthyl.

Die Hopkins-Cole-Reaktion in der 5,6(N)-Pyrrochinolin-Reihe

Die Verwertung der Farbreaktion nach Hopkins-Cole als diagnostisches Hilfsmittel zur Festlegung der Alkylsubstitution im Pyrrochinolinkern ist an die Einhaltung exakt gleicher Bedingungen gebunden. Die Farbreaktion ist sehr abhängig vom Reinheitsgrad der verwendeten Reagentien. Während der techn. Eisessig genügend Glyoxylsäure enthält, bedarf Eisessig p. a. (Kahlbaum) des Zusatzes wäßriger Glyoxylsäure. Jedoch treten auch hier noch Unterschiede auf. Vomipyrin in Eisessig plus wäßriger Glyoxylsäurelösung liefert beim Unterschichten mit konz. Schwefelsäure einen unscheinbaren roten Ring. Bei der Probe mit techn. Eisessig ohne wäßrige Glyoxylsäure tritt unter dem schmalen roten Ring ein intensiverer grünblauer Ring auf. Bei der „Schichtprobe“ stellt der Endzustand sich meist erst nach Stundenfrist ein. Bei der Mischprobe erfolgt infolge der Erwärmung die Farbstoffbildung schneller.

Schichtprobe. 0,1—0,2 mg Base werden in 1 ccm techn. Eisessig gelöst und mit 1 ccm Schwefelsäure unterschichtet. Wenn mehrfarbige Ringe auftreten, sind die Farben in der Tabelle untereinander angegeben.

Mischprobe. 0,1 mg Base in 0,5 ccm Eisessig lösen und mit 1 ccm Schwefelsäure mischen.

Substanz	Schichtprobe		Mischprobe	
	nach 5 Min.	nach 5 Std.	nach 5 Min.	Intensität
Vomipyrin	blaß lilarot grünblau	lilablau	lila	++
Base $C_{16}H_{18}ON_2$	rötlich blaß blaugrün	lila	lila	++
Oxy-vomipyrin	rötlich kräftig grün	blau	blaugrün	+++
$C_{18}H_{16}O_2N_2$	rötlich grünblau	blauviolett	grün	+++
5,6(N)-Pyrrochinolin	rötlich	lilarot	lilarot	+
2-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin	rot	lilarot	lilarosa	+
4-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin	rotviolett	blauviolett	violett	+++
7-Äthyl-5,6(N)-pyrrochinolin	rötlich	lilarot	lilarot	++
8-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin	schwach lila	schw. violett	lila	++
10-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin	keine Färbg.	s.schw. orange	blaßgelb	fast 0
11-Methyl-5,6(N)-pyrrochinolin	stark rot	blaugrün rotviolett	rotviolett	++++
7,11-Diäthyl-5,6(N)-pyrrochino- lin	kräftig blau „ lilarot	kräftig blau „ violett	blau	++++
8-Methyl-11-äthyl-5,6(N)-pyrro- chinolin	kräftig blau „ rot- violett	kräftig blau „ violett	blaugrün	++++
7,8-Dimethyl-11-äthyl-5,6(N)- pyrrochinolin	st. blaugrün violett	kräftig blau	blaugrün	++++
8,9-Dimethyl-11-äthyl-5,6(N)- pyrrochinolin	mäßig blau- grün	stark blau	grünblau	++++
4-Äthyl-8-methyl-5,6(N)-pyrro- chinolin	lilaviolett	stark blau	rotstichig blau	+++
4-Äthyl-7-methyl-5,6(N)-pyrro- chinolin	blauviolett	stark violett	violett	+++
2,10-Dimethyl-5,6(N)-pyrrochä- nolin	blaß gelbrot	oliv	gelborange	fast 0
7,8,10-Trimethyl-5,6(N)-pyrro- chinolin	blaß rötlich	rötlich	rosa	+

10,11-Dimethyl- und 10,11-Tetramethylen-5,6(N)-pyrrochinolin und Derivate geben wie alle α,β -disubstituierten Indole keine Farbreaktion. Bei der Mischprobe tritt lediglich die gelbe Farbe der Salze auf.

Basen mit besetzter 10 Stellung geben eine äußerst schwache oder gar keine Hopkins-Cole-Reaktion, Alkyl in 11 führt zu kräftig blauen Tönen. Vomipyrin zeigt die mäßig intensive Farbreaktion der Bz-substituierten Pyrrochinoline. Die Stellungen 10 und 11 sind sicherlich frei.

Die Erwartung, daß lediglich Substituenten im Pyrrolteil die Farbreaktion wesentlich beeinflussen, trifft nicht immer zu. Auch die 4-Alkylderivate, die ja auch in Lichtabsorption und Fluoreszenz eine Ausnahmestellung einnehmen, liefern blauviolette Farbtöne.

Strychnin und Vomicin

Über Strychnos-Alkaloide XXXII

Von Heinrich Wieland, Rolf Huisgen und Robert Bubenik

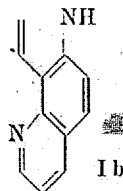
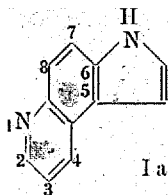
Mit 2 Figuren im Text

(Aus dem Chemischen Laboratorium der Bayerischen Akademie der Wissenschaften zu München)

[Eingelaufen am 19. Januar 1948]

Die nahen Beziehungen zwischen Strychnin und Vomicin kommen in dem übereinstimmenden Ergebnis des oxydativen Abbaus der beiden Alkaloide zum Ausdruck. Durch diesen Abbau hat H. Leuchs¹⁾ das Strychnin $C_{21}H_{22}O_2N_2$ in eine Base $C_{15}H_{22}ON_2$, das sogenannte *Aponucidin* übergeführt, während man aus Vomicin, $C_{22}H_{24}O_4N_2$ auf dem gleichen Weg eine Base $C_{16}H_{24}O_2N_2$ erhalten hat²⁾. Der Unterschied in den Strukturelementen, C, H₂, O ist in diesen beiden Abbaubasen der gleiche wie in den Alkaloiden selbst, wenn man berücksichtigt, daß das eine der im Vomicin überzähligen O-Atome an einem aromatischen Ring haftet, der bei der Oxydation zerstört wird.

Die Base $C_{16}H_{24}O_2N_2$ wurde mit Palladium zu einer aromatischen Base $C_{15}H_{16}N_2$, dem *Vomipyrin* dehydriert, dessen Konstitution zwar im einzelnen noch unbekannt ist, das sich aber ziemlich sicher von einem Pyrrochinolin ableitet. Die Grundform Ia, die wir zuerst diskutierten³⁾, hat durch synthetische Versuche keine Stütze erhalten⁴⁾, sie verträgt sich auch nicht mit der neuesten Entwicklung der Strychninchemie und wird deshalb durch den isomeren Typ Ib ersetzt.



Der Umstand, daß der Unterschied in der Zusammensetzung der beiden Alkaloide in den beiden Abbaubasen praktisch erhalten geblieben ist, schien auf ihre gleichartige Struktur zu deuten und ließ bei der Dehydrierung des Aponucidins ebenfalls das Auftreten von Vomipyrin erwarten. Diese Erwartung bestätigte sich aber nicht. Die Base, die

¹⁾ H. Leuchs und H. Schulte-Overberg, B. **64**, 1007 (1931).

²⁾ H. Wieland und L. Horner, A. **528**, 73 (1937).

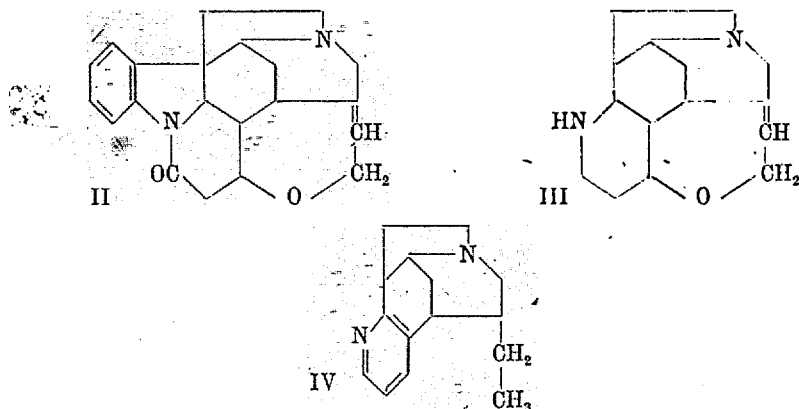
³⁾ a. a. O. S. 83.

⁴⁾ H. Wieland und L. Horner, A. **536**, 89 (1938); L. Horner, A. **540**, 73 (1939); R. Huisgen, A. **559**, 174 (1948).

isoliert wurde, $C_{15}H_{20}N_2$ entsprach schon mit ihrem hohen Wasserstoffgehalt nicht einem aromatischen Tricyclus und war auch in ihren Eigenschaften vom Vomipyrin grundverschieden. Auch in den nicht kristallisierbaren Anteilen der Reaktionsprodukte aus der Dehydrierung fand sich keine Andeutung für das Vorhandensein einer aromatischen Base von der Art eines Pyrrochinolins, die durch die intensive Gelbfärbung ihrer Salze leicht erkennbar gewesen wäre.

Damit wird offenbar, daß Strychnin und Vomiein in dem Molekelteil, den der oxydative Abbau hinterlassen hat, nicht die gleiche Struktur besitzen.

Die in jüngster Zeit durch die Arbeiten von Prelog⁵⁾, Robinson⁶⁾ und Woodward⁷⁾ erzielten Fortschritte in der Frage der Konstitution des Strychnins haben für dieses vielumstrittene Alkaloid in dem Strukturbild II durch R. Robinson die wohl endgültige Lösung gebracht. Für Aponucidin leitet sich aus II die Formel III ab. Sie macht ver-



ständig, daß aus Aponucidin kein aromatisches Dehydrierungsprodukt erhalten wird und wohl nur der Ring mit dem Stickstoff an der Wasserstoffabgabe beteiligt ist. Die Dehydrobase wäre demnach gemäß IV zu formulieren. Die Analysen von Dehydroapocynin schließen aber eine Zusammensetzung $C_{14}H_{18}N_2$ nicht ganz aus, die den Verlust eines C-Atoms bei der Dehydrierung andeuten würde. Eine solche Möglichkeit wird im folgenden Kapitel erörtert.

Die Aromatisierbarkeit des Grundgerüsts im Falle der Abbaubase aus Vomiein läßt auf die Labilität, bzw. Spaltungsneigung eines der beiden Ringe, die N(b) als Glied enthalten, schließen.

⁵⁾ V. Prelog und S. Szpilfogel, *Experientia* 1, 197 (1945); *Helv.* 28, 1669 (1945).

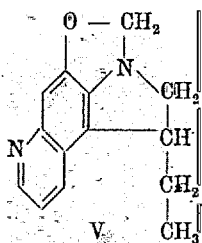
⁶⁾ *Experientia* 2, 1 (1946); *Nature* 157, 438 (1946); L. H. Briggs, H. T. Openshaw und R. Robinson, *Soc.* 1946, 903.

⁷⁾ R. B. Woodward, W. I. Brehm und A. L. Nelson, *Am. Chem. Soc.* 69, 2250 (1947).

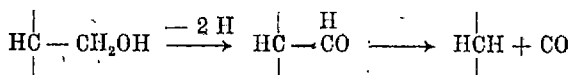
Zur Bildung und Konstitution des Vomipyrins

Es wurde schon erwähnt, daß wir die anfangs für Vomipyrin in Betracht gezogene Formel als unrichtig erkannt haben⁸⁾; es hat sich nämlich eine Methylimid-Gruppe in der Base feststellen lassen.

Die Dehydrierungsreaktion, die zum Vomipyrin $C_{15}H_{16}N_2$ führt, überschreitet ein Zwischenprodukt $C_{16}H_{18}ON_2$, das isoliert wurde⁹⁾ und das unter Verlust der Bestandteile C, O und 2H bei erneuter Dehydrierung unter etwas schärferen Bedingungen in Vomipyrin umgewandelt wird. Die frühere Formulierung für dieses Zwischenprodukt (V)

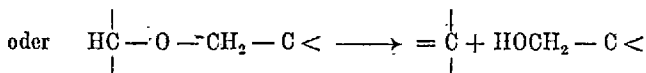
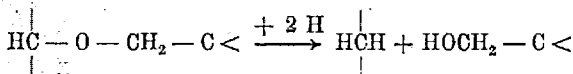


hat diese Beziehungen verständlich gemacht. Nachdem aber jetzt eine Methylgruppe am Indol-Stickstoff nachgewiesen ist, und da die Base C_{16} gleich dem Vomipyrin vollkommen aromatischen Charakter hat, muß für den Verlust eines C-Atoms beim Übergang von $C_{16}H_{18}ON_2$ in $C_{15}H_{16}N_2$ eine andere Deutung gesucht werden. Wir nehmen an, daß in der sauerstoffhaltigen Base eine primäre Alkoholgruppe enthalten ist, die unter Abspaltung von 2H und CO abgebaut werden könnte:



Da diese Reaktion sich in der Seitenkette abspielt, muß auch die Vorstufe schon über das vollaromatische Grundgerüst des Vomipyrins verfügen. Der Vergleich der UV-Absorptionsspektren, für deren Aufnahme wir Fr. Dr. F. Pruckner Dank schulden (Fig. 1), der Indol-Farbreaktionen und der Basizität rechtfertigen diese Auffassung. Entsprechendes gilt für das Paar $C_{16}H_{18}O_2N_2$ und *Oxy-vomipyrin*⁸⁾ (Fig. 2); im Schwefeldehydierungsprodukt $C_{16}H_{18}O_2N_2$ gelang durch Acetylierung der Nachweis des Hydroxyls.

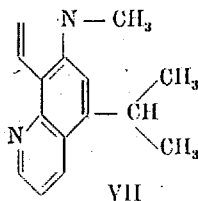
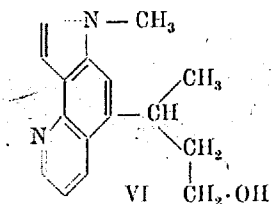
Die primäre OH-Gruppe ist, wenn diese Vorstellung zutrifft, durch Aufspaltung von einem der beiden Oxidringe entstanden, die wir im Vomycin bisher angenommen haben.



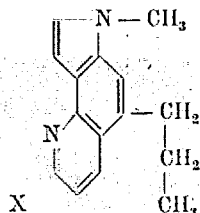
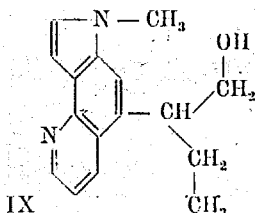
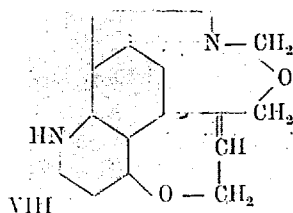
⁸⁾ H. Wieland und R. Huisgen, A. 556, 162 (1944).

⁹⁾ H. Wieland und L. Horner A. 545, 114 (1940).

Handelt es sich dabei um den Oxidoring a, den das Vomecin mit dem Strychnin gemeinsam hat und dessen Öffnung bereits beim Übergang der Alkaloide in ihre Iso-Basen zum Ausdruck kommt, so hat man der Vorstufe des Vomipyrins die Formel VI und diesem selbst VII zu geben. Vomipyrin erscheint so als 5-Isopropyl-N-methyl-7(N),8-pyrrochinolin.



Die zweite Oxidbrücke, die wir in die Molekel des Vomecins legen, kann bei der Ableitung des Vomipyrins vom 7(N)-8-Pyrrochinolin nicht mehr wie bisher den Stickstoff b mit einem der inneren Ringe verbinden. Wir fügen sie jetzt in den heterocyclischen Ring ein, so wie dies die Formel VIII für die Base $C_{16}H_{24}O_2N_2$ ausdrückt. Die Entstehung von



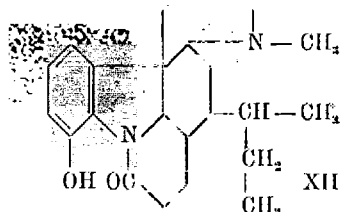
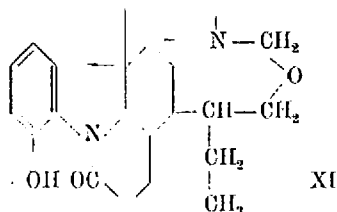
Vomipyrin aus der Base gemäß VIII bedarf keiner näheren Erörterung. Nur muß man berücksichtigen, daß auch wenn die Formel VIII richtig ist, außer dem oben formulierten Reaktionsverlauf noch ein zweiter möglich ist, der zu einem mit VII isomeren Vomipyrin führt. Das Zwischenprodukt kann nämlich auch die Konstitution IX haben, in dem die Oxidbrücke b durch Hydrierung geöffnet worden wäre. Das so entstandene Vomipyrin wäre 5-n-Propyl-N-methyl-7(N),8-pyrrochinolin(X).

Eine C-Methylbestimmung nach Kuhn und Roth hat für Vomipyrin 60 % von einem bei der Oxydation entstehenden Mol Essigsäure ergeben. Dieser Befund scheint mehr für eine n-Propyl- als für eine Isopropyl-Gruppe zu sprechen. Aber eine definitive Aussage wird man erst machen können, wenn eine vergleichende C-Methylbestimmung zweier isomerer aromatischer Propylverbindungen vorliegt.

Die C-Methylbestimmung hat auch für einige Hydrierungsprodukte aus Vomecin eine wertvolle Bestätigung erbracht. So entstand aus Vomecin selbst keine Essigsäure, aus Tetrahydro-desoxyvomycin (XI)¹⁰⁾

¹⁰⁾ A. 555, 23 (1943).

die 0,5 Mol entsprechende Menge. In der Base $C_{22}H_{30}O_2N_2$ aus Desoxyvomycin¹¹⁾, in der auch der Oxidoring b hydrierend geöffnet ist (XII), wurde 1,3 Mol Essigsäure als Produkt der Oxydation gefunden. Dies erscheint uns besonders bemerkenswert.



Wir wollen nicht verschweigen, daß die Formel für Vomycin, zu der wir durch die neuen Aufschlüsse über die Natur des Vomipyrins hingedrängt werden, zwar alle bisher bekannt gewordenen Umsetzungen des Alkaloids, soweit wir sehen, befriedigend erklärt, daß sie aber den beiden Stufen des Emde-Abbaus vom quartären Vomyciniumsalz aus¹²⁾ nach den Regeln der bisherigen Erfahrungen nicht gerecht wird.

Versuche

Dehydro-aponucidin

Das *Dioxonucidin* wurde nach den Angaben von Leuchs aus Brucidin dargestellt. Dessen Oxydation zu Carboxy-aponucidin wurde dahin abgeändert, daß die Isolierung der Substanz über das Perchlorat vermieden wurde.

6 g *Dioxonucidin*, in 120 ccm Wasser gelöst, werden bei Raumtemperatur mit 26,8 ccm 2,9proc. Wasserstoffperoxyd zusammengebracht. Die Temperatur steigt nach kurzer Zeit auf 28° und nach halbstündigem Stehen ist noch H_2O_2 nachzuweisen. Man leitet nun Schwefeldioxyd ein und erwärmt die Lösung bis zum Siedepunkt. Dann fällt man die gebildete Schwefelsäure genau mit Barytwasser aus und engt das Filtrat vom Bariumsulfat i. V. bis auf ein kleines Volumen ein. Nach mehrstündigem Stehen kristallisiert die Amino-säure in einer Ausbeute von 3,8 g (65% der Theorie) aus.

Zur *Dehydrierung* wurden 0,5 g Carboxy-aponucidin mit 0,7 g Palladiumschwarz innig vermischt und in einer Retorte im Metallbad im Verlauf von 6 Stunden auf 290° erhitzt. In der Vorlage sammeln sich geringe Mengen eines hellgelben Öls. Der Inhalt der Retorte wird im Hochvakuum, überdestilliert. Man nimmt das Destillat in Chloroform auf, schüttelt die Chloroformlösung mit wenig verdünnter Salzsäure aus, setzt die Basen aus der wäßrigen Lösung mit Ammoniak in Freiheit, schüttelt sie in Chloroform und wiederholt nach dem Abdampfen des Lösungsmittels die Destillation im Hochvakuum. Das Destillat wurde in wenig Methylalkohol aufgenommen. Dazu fügte man einige Tropfen

¹¹⁾ A. 469, 196 (1929). A. 527, 152 (1937).

¹²⁾ A. 545, 59 (1940); A. 555, 1 (1943).

ätherischer Salzsäure und brachte durch vorsichtigen Ätherzusatz das Chlorhydrat des *Dehydro-aponucidins* zur kristallinischen Abscheidung. Es beginnt bei 240° sich zu zersetzen.

Zur Analyse wurde das Salz im Hochvakuum getrocknet.

3,261 mg Subst.: 7,099 mg CO₂, 1,934 mg H₂O; 3,805 mg Subst.: 0,320 ccm N₂ (20°, 717 mm).

C₁₅H₂₀N₂ · 2 HCl (301,2) Ber. C 59,76 H 7,36 N 9,30

Gef. „ 59,41 „ 6,64 „ 9,58.

Eine Verbesserung der Ausbeute läßt sich erreichen, wenn man das Carboxy-aponucidin, das erst bei 289° schmilzt, im Gemisch mit Anthracen der Dehydrierung unterwirft.

1 g Carboxy-aponucidin, 1 g Anthracen und 1,5 g Palladiumschwarz wurden im Verlauf von 6 Stunden auf 260° erhitzt; von 200° ab wird die Temperatur langsam gesteigert. Die Aufarbeitung erfolgt wie vorher beschrieben. Bei der Hochvakuumdestillation gingen bei 100° (Bad) 140 mg über, aus denen wieder das Chlorhydrat gewonnen wurde. Es folgten noch weitere Fraktionen basischer Anteile, im ganzen 46 mg, aus denen keine einheitliche Substanz abgetrennt werden konnte. Das Auftreten gelber Salze wurde nicht beobachtet.

Die freie Base wurde aus der wäßrigen Lösung ihres Chlorhydrats mit Ammoniak ausgeschieden, in Chloroform aufgenommen und nach Entfernung des Lösungsmittels aus ihrer Petrolätherlösung durch langsames Eindunsten in schönen, farblosen Kristallen vom Schmp. 94° erhalten. Die Base ist hygroskopisch.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum über P₂O₅ bis zur Konstanz getrocknet. 2,143 mg Subst.: 6,170 mg CO₂, 1,708 mg H₂O; 1,973 mg Subst.: 0,214 ccm N₂ (18°, 750 mm).

C₁₅H₂₀N₂ (228,2) Ber. C 78,88 H 8,83 N 12,27

C₁₄H₁₈N₂ (214,2) „ „ 78,45 „ 8,46 „ 13,09

Gef. C 78,52 H 8,92 N 12,56.

Die Base gibt mit dem Hopkins-Cole-Reagens keine Färbung und löst sich farblos in Säuren.

Methylimid-Bestimmungen

Die gewichtsanalytische Mikro-Methylimid-Bestimmung liefert für Vomipyrin und seine Derivate regelmäßig etwas zu tiefe Werte. Diese Beobachtung ist auch bei den synthetischen Pyrrochinolinbasen mit N-Methyl gemacht worden¹³⁾.

Vomipyrin: 3,866 mg Subst., 3,354 mg AgJ

4,351 mg Subst., 3,441 mg AgJ

C₁₅H₁₆N₂ (224,2) NCH₃ Ber. 12,9 Gef. 10,7 und 9,75

Oxy-vomipyrin: 3,886 mg Subst., 3,540 mg AgJ

C₁₅H₁₆ON₂ (240,2) NCH₃ Ber. 12,08 Gef. 11,26

Produkt der Dehydrierung mit Schwefel: 3,295 mg Subst., 2,591 mg AgJ.

C₁H₁₀O₂N₂ (270,2) NCH₃ Ber. 10,75 Gef. 9,75

Base C₁₆H₁₈ON₂ nach A. 545, 118 (1940):

C₁₆H₁₈ON₂ · HCl (290,5) NCH₃ Ber. 9,27 Gef. 8,38.

¹³⁾ R. Huisgen, A. 559, 101 (1948).

Die Zwischenprodukte der Dehydrierung

Die Base $C_{16}H_{18}ON_2$ konnte bei der Dehydrierung der Base $C_{16}H_{24}O_2N_2$ mit Palladium unter milden Bedingungen isoliert werden⁹⁾. Diese Vorstufe des Vomipyrins bildet gleich diesem, wie schon früher beschrieben, ein gelbes Monochlorhydrat, verfügt also, anders als Dehydro-aponucidin und im Gegensatz zu den früheren Formulierungen nur über *einen* basischen Stickstoff. Die Farbreaktion nach Hopkins-Cole ist rötlich, entspricht auch bei reinsten Präparaten in Art und Intensität der des Vomipyrins. Die hellblaue UV-Fluorescenz hat die Base mit allen Pyrochinolinen gemein.

Der Körper $C_{16}H_{16}O_2N_2$, der bei der Schwefel-Dehydrierung der Base $C_{16}H_{26}O_2N_2$ entsteht⁸⁾, verhält sich zum Oxyvomipyrin wie die eben erwähnte Base $C_{16}H_{18}ON_2$ zum Vomipyrin. Die Hopkins-Cole-Reaktion liefert eine Schichtenfolge lilarot-gelbgrün, die von der des Oxyvomipyrins nicht unterscheidbar ist. Der Körper löst sich zwar als Carbostyryl-Derivat in verd. Salzsäure, gibt jedoch schon beim Eindampfen auf dem Wasserbad oder beim scharfen Trocknen im Exsiccator den Chlorwasserstoff wieder ab. Das zweite Stickstoffatom ist also nicht basisch, liegt, wie die Farbreaktionen zeigen, in einem Indol-system vor.

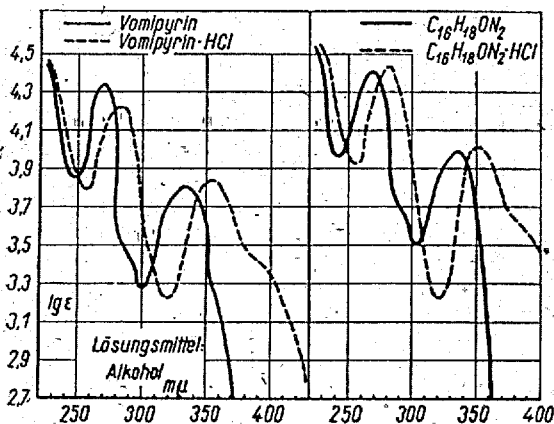


Fig. 1

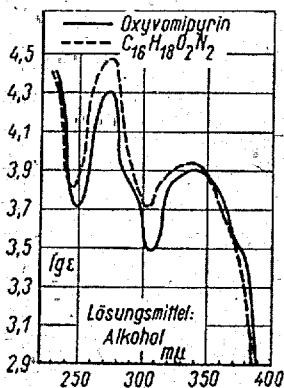


Fig. 2

Wie die Fig. 1 und 2 zeigen, stimmen in der Lichtabsorption die Zwischenprodukte mit den Endprodukten der Dehydrierung überein. In folgender Tabelle ist die Lage der Absorptionsmaxima in $m\mu$ angegeben.

		$\lambda_{\max}$ I	$\lambda_{\max}$ II
Vomipyrin:	Base.	270	333
	Chlorhydrat	284	356
$C_{16}H_{18}ON_2$:	Base.	270	336
	Chlorhydrat	282	350
Oxyvomipyrin		272	337
$C_{16}H_{18}O_2N_2$		274	338

Acetylierung von $C_{16}H_{18}O_2N_2$

(Produkt der Schwefeldehydrierung der Base $C_{16}H_{26}O_2N_2$)

In Kontrollversuchen mit Carbostyryl und Oxy-vomipyrin wurde zunächst die Resistenz der α -Oxychinolin-Gruppierung gegen Acetanhydrid festgestellt.

40 mg der Vorstufe von Oxyvomipyrin werden mit 0,5 ccm Essigsäureanhydrid 10 Minuten zum gelinden Sieden erhitzt. Der Überschuß an Acetanhydrid wird i. V. bei 50° (Bad) abgedampft. Der lackartige Rückstand wird beim Durchreiben mit Wasser körnig. Nach dem Trocknen wird aus sehr wenig Methanol umkristallisiert zu blaßrosa gefärbten glänzenden Blättchen. Die Kristalle sind nach mehrfachem Umlösen aus ganz wenig Methanol unter Zusatz von Tierkohle zwar farblos, können aber von einer kleinen Menge amorpher Substanz erst durch schnelles Zentrifugieren der übersättigten Lösung befreit werden. Schmp. 148°.

Zur Analyse wurde bei 100° i. V. getrocknet:

1,681 mg Subst.: 4,256 mg CO_2 , 1,083 mg H_2O

$C_{18}H_{20}O_3N_2$ (312,18) Ber. C 69,19 H 6,46
Gef. „ 69,05 „ 7,21.

Optische Drehung des Körpers $C_{16}H_{18}O_2N_2$

1. 13,1 mg Subst. in 5 ccm Methanol; 2 dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +0,13^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +24,8^\circ$.
2. 1,98 mg Subst. in 0,385 ccm 96proz. Alkohol; 1 dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +0,14^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +27,2^\circ$.

Wegen der Kleinheit der abgelesenen Drehung ist der Fehler mit 20 % zu veranschlagen. Außer Zweifel steht dagegen das Vorhandensein einer positiven Drehung.

C-Methyl-Bestimmungen in der Vomycinreihe

Für die C-Methyl-Analyse nach dem Kuhn-L'Orsa-Rothschen Verfahren wurden allerreinste Präparate verwendet. C-Methylhaltige Lösungsmittel wurden zum Umkristallisieren vermieden. Die Präparate wurden im Hochvakuum bei 100° getrocknet oder im Hochvakuum sublimiert. Für die Ausführung der Analysen sind wir dem KWI für medizinische Forschung in Heidelberg zu großem Dank verpflichtet. Als Testsubstanz wurde *Eserin* verwendet.

	mg Substanz	ccm n/100 NaOH	% von 1 Mol Essigsäure
<i>Strychnin</i>	13,759	0	0
<i>Eserin</i>	17,670	2,42	37,7
	21,600	3,04	38,7
<i>Vomicin</i>	16,665	0	0
Base C ₁₆ H ₂₄ O ₂ N ₂ aus Vomicidin	16,055	0	0
<i>Tetrahydrodesoxyvomicin A</i>	9,275	1,25	50
	10,768	1,31	45
Base C ₂₂ H ₃₀ O ₂ N ₂ (Hydrierung von Desoxyvomicin)	10,360	3,75	128
	8,918	3,30	131
Base C ₁₆ H ₂₆ O ₂ N ₂ aus Vomicin	9,854	2,40	68
	9,947	2,24	63
<i>Dimethylvomicin</i>	10,484	0,61	24
	11,290	0,70	26
<i>Vomipyrin</i>	12,420	3,40	61,5
	6,803	1,84	60,7

Zur Kenntnis der sog. Glucose-oxydase

IV. Beziehungen zwischen enzymatischer und antibakterieller Wirkung.

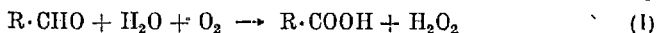
Von Jakob Freimann und Wilhelm Franke

Mit 7 Figuren im Text

(Mitteilung aus dem Institut für organisch-chemische Technologie und Gärungschemie der Universität Würzburg)

[Eingelaufen am 22. Januar 1947]

Die Glucose-oxydase, worunter bekanntlich das zuerst von D. Müller¹⁾ in Schimmelpilzen aufgefundene und von W. Franke und M. Deffner²⁾ als Flavoprotein erkannte Ferment der aeroben Glucosäurebildung aus Glucose verstanden wird, hat in den letzten Jahren im Zusammenhang mit der Isolierung antibakteriell wirksamer Flavin-Eiweißkörper aus *Pen. notatum* (*Penatin*, *Notatin*, *Penicillin B*) aktuelles Interesse gefunden. Es wurde z. T. Identität, z. T. wenigstens nahe Verwandtschaft dieser Wirkstoffe mit dem Enzym angenommen, wobei die von Franke und Lorenz^{2a)} zuerst nachgewiesene H₂O₂-Bildung



die eigentliche Ursache der antibakteriellen Wirkung sein sollte. In der vorausgehenden III. Mitteilung dieser Serie war von Franke³⁾ anhangs-

¹⁾ Biochem. Z. 199, 136 (1928); Zusammenfassung der älteren Müllerschen Arbeiten in Erg. Enzymforsch. 5, 269 (1936).

²⁾ Ann. 541, 117 (1939).

^{2a)} Ann. 532, 1 (1937).

³⁾ Ann. 555, 111 (1944).

weise darauf hingewiesen worden, daß auch die in früher beschriebener Weise²⁾⁴⁾ aus *Asp. niger* und *Pen. glaucum* dargestellten Enzympräparate bakteriostatisch gegen *Staph. aureus* wirksam waren.

Über die Isolierung hochmolekularer „Mycoine“⁵⁾ von bakteriostatischer Wirkung haben bisher — von kurzen Mitteilungen W. Kocholatys^{6a)} über eine Substanz *Penatin* in Kulturfiltraten von *Pen. notatum* abgesehen — vor allem der englische Arbeitskreis um H. Raistrick⁶⁾ und der amerikanische um E. A. Doisy⁷⁾ nähere Angaben gemacht, der erstere nur in kurzer vorläufiger Form, der letztere in Form zweier systematischer Untersuchungen. Zu erwähnen ist ferner eine französische Arbeit von H. Pénaud, C. Levaditi und G. Hagemann⁸⁾ über einen offenbar identischen hochmolekularen Wirkstoff aus *Pen. corylophyllum*. Sämtliche Angaben beziehen sich auf die Aufarbeitung von Kulturfiltraten der Schimmelpilze, während von Franke³⁾ das *Mycel* aufgearbeitet und daraus hergestellte Präparate untersucht worden waren.

Versuche, enzymatische und bakteriostatische Aktivität gereinigter Präparate in exakte Beziehung zueinander zu setzen, fehlen bisher noch fast vollständig. In der vorausgehenden Mitteilung³⁾ war allerdings in orientierenden Versuchen an zwei Enzympräparaten mit den Q_{O_2} -Werten 220 und 450 ein annäherndes Parallelgehen der bakteriostatischen Wirksamkeit zum Q_{O_2} -Wert beobachtet worden. Doisy und Mitarbeiter^{7a)} haben statt der Geschwindigkeit der O_2 -Aufnahme die Zeit der anaeroben Methylenblauentfärbung in Glucosegegendwart als Enzymtest heranzuziehen versucht. „Vorläufige Versuche, diese Reaktion als Ersatz für die bakterielle Prüfung von Penicillin B zu verwerten, sind nicht eindeutig gewesen.“ Dieses Ergebnis war allerdings nach fast gleichzeitigen Versuchen Frankes³⁾ — ihrerseits durch eine neuere Arbeit D. Müllers⁹⁾ angeregt —, wonach Farbstoffreduktion und aerobe Enzymwirkung keineswegs parallel laufen, vorauszusehen.

Die oben erwähnten angelsächsischen Autoren haben zur Anreicherung von *Notatin* bzw. *Penicillin B* eine Reihe von Verfahren angegeben, von denen einzelne, wie die *Aceton-* und *Ammonsulfatfraktionierung*, schon vor Jahren von Franke und Deffner²⁾ bei der Reinigung der Glucoseoxydase angewandt worden waren. Andere Methoden, wie die *Fällungen mit Tannin* und *Reineckesalz*⁶⁾, mit *Uranylacetat* und *Benzoessäure*⁷⁾ waren z. T. neu und am Enzym noch nicht erprobt. Im Zuge geplanter systematischer Untersuchungen über das Verhältnis von

⁴⁾ W. Franke bei Bamann-Myrbäck, D. Methodik d. Fermentforsch., S. 2386f. (Leipzig 1941).

⁵⁾ J. Vonkennel, J. Kimmig u. A. Lembke, Klin. Wschr. 22, 321 (1943).

^{6a)} J. Bact. 44, 142, 469 (1942).

⁶⁾ C. E. Coulthard, R. Michaelis, W. F. Short, G. Sykes, G. E. Skrimshire, A. F. B. Standfast, J. H. Birkinshaw u. H. Raistrick, Nature 150, 634 (1942). — J. H. Birkinshaw u. H. Raistrick, J. biol. Chem. 148, 459 (1943).

⁷⁾ E. C. Roberts, C. K. Cain, R. D. Muir, F. J. Reithel, W. L. Gaby, L. T. van Brüggem, D. M. Homan, P. A. Katzman, L. R. Jones u. E. A. Doisy, a) J. biol. Chem. 147, 47 (1943); b) J. biol. Chem. 148, 365 (1943).

⁸⁾ Bull. Soc. Chim. biol. 25, 406 (1943).

⁹⁾ Naturwiss. 28, 516 (1940); Enzymol. 10, 40 (1941).

enzymatischer und antibakterieller Wirkung schien es von Interesse, das Verhalten dieser Agenzien auch bei *Fermentreinigung*-versuchen zu prüfen. Versuche dieser Art stellen den Hauptinhalt des ersten Teils dieser Mitteilung dar. Im zweiten Teil wird dann über die antibakterielle Wirkung einiger auf verschiedene Weise dargestellter Enzympräparate berichtet. Obwohl abschließende Ergebnisse noch nicht erzielt werden konnten, sollen doch die bisherigen Befunde bekanntgegeben werden, da die Untersuchungen aus äußeren Gründen einstweilen unterbrochen werden müssen.

Methodik

1. Die enzymatischen Aktivitätsprüfungen erfolgten, soweit nicht anders angegeben, nach der Warburg-Methodik bei 30° in Luft (mit KOH auf Filterpapier im Mitteleinsatz der Gefäße). Der allgemeine Ansatz der Versuche — im folgenden stets als „Normalansatz“ bezeichnet — war:

- 1 ccm Enzymlösung (meist 1 mg Trockengewicht enthaltend)
- 2 „ m/5-Phosphatpuffer p_H 6,8
- 1 „ H_2O
- 1 „ m-Glucose (nach Temperatenausgleich zugekippt).

Schüttelgeschwindigkeit: 120 Hin- und Hergänge/Min.

Als *Aktivitätsmaß* diente zumeist der Ausdruck $Q_{O_2} = \frac{\text{cmm } O_2}{\text{mg Enzym} \times \text{Std}}$. Da die erhaltenen Q_{O_2} -Werte bei längerer Versuchsdauer aus verschiedenen Gründen (Enzymschädigung, pH-Änderung, Substrat- oder O_2 -Abnahme u. dgl.) stärker abfallen können, wurde der Einheitlichkeit halber, wo nichts weiteres vermerkt, Q_{O_2} grundsätzlich aus der O_2 -Aufnahme nach 10 Min. berechnet.

2. Die Prüfung der bakteriostatischen Wirkung geschah im wesentlichen wieder nach der in der vorausgehenden Mitteilung³⁾ näher beschriebenen Methode unter Verwendung des gleichen *Staph. aureus*-Stammes. Jedoch wurden die Verdünnungsreihen mit abgestuften Fermentzugaben nicht mehr in Glucosebouillon, sondern in einem einfacheren, in der II. Mitteilung von Doisy und Mitarb.^{7b)} angegebenen Nährmedium von der Zusammensetzung:

- | | |
|------------------|---|
| 1 % Witte-Pepton | } mit verd. H_3PO_4 auf pH 6,0—6,5 gebracht |
| 1 % Glucose | |
| 0,5 % NaCl | |

durchgeführt. Feststellung der Wachstumsgrenze nach 24stündiger Inkubation bei 37°. Als *Maß der bakteriostatischen Wirkung* sei Q_{bact} , der Wert der das Bakterienwachstum gerade noch unterbindenden Verdünnung, eingeführt.

Versuche

I. Enzymwirkungen

A. Zur Kinetik

Zu Beginn der Untersuchung ergaben sich bei der Prüfung von Enzympräparaten sehr verschiedener Aktivität und Herkunft des öfteren Widersprüche, die z. T. offenbar auf die schon erwähnte Variabilität der Q_{O_2} -Werte, mangelnde Proportionalität zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Enzymkonzentration, unzureichende Konstanz der

Schüttelgeschwindigkeit und ähnliche Faktoren zurückgingen. Da die Kinetik der Glucoseoxydase, und zwar an ganz unreinen Präparaten ($Q_{O_2} = 15 - 45$), nur in der vor 10 Jahren erschienenen I. Mitteilung dieser Reihe^{2a}) etwas eingehender behandelt worden war, schien es im Interesse der Zuverlässigkeit der Aktivitätsangaben, auf die ja später die Angaben der bakteriostatischen Wirksamkeit bezogen werden sollten, ratsam, diesen Punkt an den nunmehr um Größenordnungen aktiveren Präparaten nochmals nachzuprüfen.

1. *Einfluß der Enzymkonzentration in Luft und O_2 .* Franke und Lorenz¹⁰) hatten bei Enzymmengen zwischen 2,5 und 50 mg ($Q_{O_2} = 24$) und O_2 -Aufnahmen von maximal 250 cmm/10 Min. in Luft Proportionalität zwischen Oxydationsgeschwindigkeit und Enzymkonzentration gefunden. Bei der neuerdings erfolgten Prüfung eines Präparates von $Q_{O_2} = 1100$ zeigte sich, daß in Luft die Proportionalitätsgrenze schon bei 1,5 mg (entsprechend einer O_2 -Aufnahme von 300 cmm/10 Min.) erreicht ist und daß bei 20 mg (entsprechend 860 cmm O_2 /10 Min.) die Geschwindigkeit der O_2 -Aufnahme von der Enzymmenge überhaupt unabhängig zu werden beginnt. (Fig. 1, Kurve I und Ia.) Daß es sich hier um eine *physikalisch* (durch die O_2 -Diffusion) bedingte Grenzgeschwindigkeit handelt, geht aus einem Parallelversuch in reinem O_2 hervor, in dem bei wenigstens aufs Doppelte gesteigerter Absolutgeschwindigkeit die Proportionalitätsgrenze auf ca. 3 mg erhöht und auch bei 30 mg Enzym noch keine Grenzgeschwindigkeit erreicht war (Fig. 1, Kurve II und IIa). In die gleiche Richtung weist der Einfluß

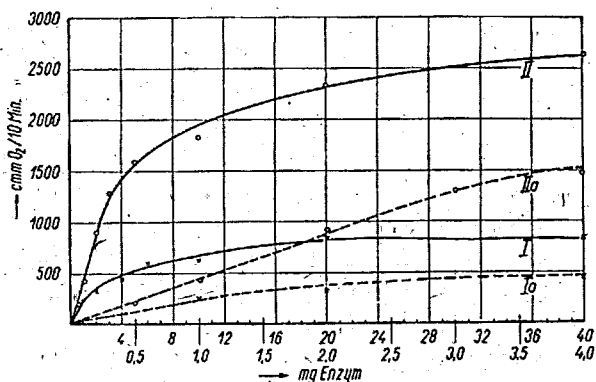


Fig. 1. Einfluß der Enzymkonzentration in Luft (I u. Ia) und Sauerstoff (II u. IIa).

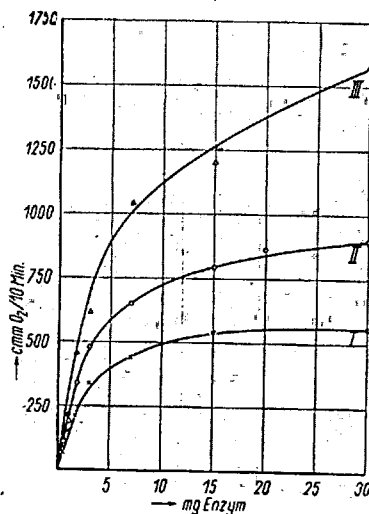
Normalansätze nach S. 201 (bis auf die variierte Enzymmenge). Kurve Ia und IIa mit 10fach vergrößertem Abszissenmaßstab.

der *Schüttelgeschwindigkeit*, der in drei Versuchsreihen mit 80, 120 und 160 Hin- und Hergängen/Min. untersucht wurde (Fig. 2). Erhöhung

Fig. 2.
Einfluß der Schüttelgeschwindigkeit.

Normalansätze.

I	80	Hin- und	Hergänge/Min.	
II	120	„	„	/ „
III	160	„	„	/ „



der Schüttelgeschwindigkeit und damit der Lösungsgeschwindigkeit des Sauerstoffs wirkt qualitativ ähnlich wie Erhöhung des O_2 -Partialdrucks: die Grenze des Proportionalitätsgebiets rückt nach oben und die Grenzgeschwindigkeit der O_2 -Aufnahme wird bei zunehmend höheren Enzymkonzentrationen erreicht.

Für die Praxis der Aktivitätsbestimmung ergab sich aus diesen Versuchen, daß unter den üblichen Reaktionsbedingungen (Luft, 120 Schüttelbewegungen/Min.) eine O_2 -Aufnahme von etwa 300 cm³/10 Min. nicht überschritten werden sollte.

2. Der Einfluß der Temperatur auf Reaktionsgeschwindigkeit und Stabilität der Glucoseoxydase war ebenfalls in mehrfacher Hinsicht von Interesse. Bereits in der I. Mitteilung^{2a)} war an *Aspergillus*-Rohpräparaten ($Q_{O_2} = 24$) der für ein Enzym überraschend geringe Einfluß der Temperatur (im Bereich zwischen 20 und 37° in Luft) auf die Geschwindigkeit der O_2 -Aufnahme festgestellt¹⁰⁾ und auch eine (im wesentlichen wieder physikalische) Erklärung dafür zu geben versucht worden. Daß im untersuchten Temperaturbereich bereits eine Fermentschädigung bei dieser Erscheinung mitspielte, war bei der schon vorher von Müller¹⁾ angegebenen hohen Tötungstemperatur des *Aspergillus*-Enzyms (73°, bei späterer Nachprüfung Frankes³⁾ 63°) sehr unwahrscheinlich. Da bei gereinigtem *Penicillium*-Enzym aber niedrigere Tötungstemperaturen [56—58°³⁾] gefunden worden waren, schien eine Nachprüfung der Verhältnisse zweckmäßig, besonders auch im Hinblick auf die Tatsache, daß die Aktivitätsteste stets bei 30°, die bakterio-statischen Tests aber bei 37° ausgeführt wurden.

¹⁰⁾ Neuerdings von Doisy u. Mitarb.^{7b)} für Penicillin B bestätigt.

Zunächst wurden für eine Reihe von Enzymen verschiedener Aktivität ($Q_{O_2} = 186-4560$) Reaktionskurven bei 10° , 20° , 30° und 37° aufgenommen. — Fig. 3 zeigt eine typische Versuchsserie dieser Art — und daraus dann die Temperaturkoeffizienten berechnet (Tab. 1).

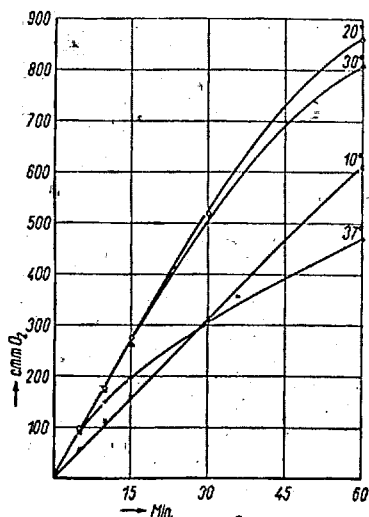


Fig. 3.

Einfluß der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit.

Normalansätze.

Enzym mit $Q_{O_2} = 1050$.

In der ersten Vertikalspalte sind die Q_{O_2} -Werte der verwendeten Präparate (stets 1 mg im Ansatz) unter Normalbedingungen (S. 201), in der ersten Horizontalspalte die Versuchstemperaturen t und dazwischen die Temperaturkoeffizienten q (Q_{O_2}/Q_{O_2} , Q_{O_2}/Q_{O_2} und Q_{O_2}/Q_{O_2}) verzeichnet. Sämtliche Q_{O_2} -Werte aus den O_2 -Aufnahmen nach 10 Min. berechnet.

Tab. 1

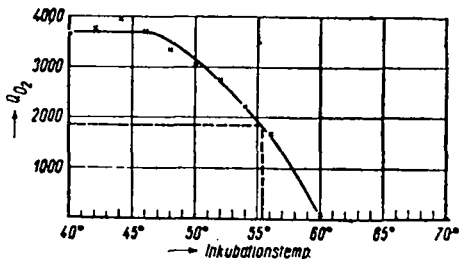
$Q_{O_2} \backslash u \quad q \quad t^\circ$	10°	q	20°	q	30°	q	37°
186	108	1,51	164	1,13	186	0,88	164
805	540	1,51	820	0,98	805	0,75	606
1050	684	1,55	1060	0,99	1050	0,72	890
1570	980	1,52	1490	1,06	1570	0,64	1000
3100	1950	1,49	2900	1,07	3100	0,64	1970
4560	2900	1,48	4300	1,06	4560	0,63	2880

Es zeigt sich, daß ein Optimum der Reaktionsgeschwindigkeit schon bei $20-30^\circ$ erreicht ist. Auffallend ist an Fig. 3 weiterhin das mit steigender Versuchstemperatur immer betonter auftretende Abfallen der Reaktionsgeschwindigkeit während des Versuchs.

In diesem Zusammenhang wurde nochmals die „Tötungstemperatur“ des *Penicillium*-Enzyms an einem hochaktiven Präparat ($Q_{O_2} = 3700$) durch halbstündiges Erwärmen des glucosefreien Ansatzes auf verschiedene Temperaturen bestimmt. Fig. 4 zeigt die nach dieser Vorbehandlung

Fig. 4. Einfluß der Temperatur auf die Stabilität der Glucoseoxydase (Bestimmung der „Tötungstemperatur“).

Normalansätze (zunächst ohne Glucose) 30 Min. auf verschiedenen Temperaturen gehalten, anschließend Glucosezusatz und Bestimmung der Restaktivität bei 30°.



im Normalversuch noch feststellbaren Q_{O_2} -Werte. Die „Tötungstemperatur“ liegt in Übereinstimmung mit früheren, an unreinerem *Penicillium*-Ferment ($Q_{O_2} = 120-540$) erhaltenen Ergebnissen bei 55°^{10a)}. Aus dem Abfallen der Reaktionsgeschwindigkeit schon in bei ca. 20° tieferen Temperaturen ausgeführten Versuchen muß geschlossen werden, daß das „arbeitende“ Enzym erheblich temperaturempfindlicher ist als das „ruhende“. Es liegt nahe, an eine Enzymschädigung durch das intermediär entstehende *Hydroperoxyd* zu denken, wie sie ja besonders ausgeprägt beim Schardinger-Enzym der Milch beobachtet worden ist^{11, 11a)}.

3. p_H -Abhängigkeit von Reaktionsgeschwindigkeit und Enzymstabilität sind in den Kurven I und II der Fig. 5 vergleichend zur Anschauung gebracht.

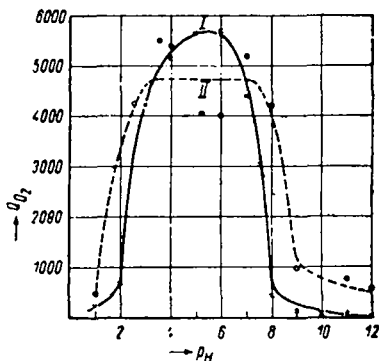
Fig. 5. p_H -Abhängigkeit von Reaktionsgeschwindigkeit (I) und Enzymstabilität (II).

I direkte Aktivitätsbestimmung bei verschiedenem p_H .

II Aktivitätsbestimmung bei pH 6,8 nach vorausgehender 30 Min. langer Inkubation der Enzymlösung bei 20° und versch. p_H .

Pufferung:

- p_H 1—2 m/10-Glykokoll-HCl
- p_H 3—4 m/10-Citrat-HCl
- p_H 5—7 m/15-Phosphat
- p_H 8—9 m/10-Veronal-HCl
- p_H 10—12 m/10-Glykokoll-NaOH.



^{10a)} Nach Raistrick u. Mitarb.⁹⁾ wird Notatin bei 60° rasch zerstört.

¹¹⁾ M. Dixon, Biochem. J., **19**, 506 (1925). — H. Wieland u. Mitarb., Ann. **477**, 32 (1929); **483**, 217 (1930).

^{11a)} Vgl. auch Fußnote ²¹⁾ S. 219.

Im ersteren Falle wurde unmittelbar die O_2 -Aufnahme durch 0,5 mg eines gereinigten Enzympräparates ($Q_{O_2} = 5000$) in Ansätzen von verschiedenem pH, im übrigen aber dem Normalansatz entsprechend, festgestellt, im letzteren erst, nachdem das Enzym zunächst 30 Min. bei 20° in den verschiedenen Pufferlösungen gehalten und anschließend Glucose zugegeben und pH 6,8 (durch Phosphatzusatz) eingestellt worden war.

Die fast symmetrische Aktivitäts- p_H -Kurve I entspricht im wesentlichen früheren, an unreinem Enzym erhobenen Befunden von Müller¹⁾ und Franke und Lorenz^{2a)}. Bei der Stabilitäts- p_H -Kurve II, die leider nur einmal aufgenommen werden konnte, läßt sich trotz der erheblichen, wenigstens z. T. auf Pufferspezifitäten und ungleiche Ionenkonzentrationen (s. unten) zurückgehenden Schwankungen immerhin deutlich eine Stabilitätszone zwischen p_H 2,5 und 8 feststellen^{11b)}. Jenseits dieser Grenzen läuft die Stabilitäts- der Aktivitätskurve im wesentlichen parallel, doch über der letzteren. Es scheint also, daß der Abfall der Aktivitätskurve bei extremen p_H -Werten durch irreversible Fermentschädigung bedingt ist¹²⁾, wobei die zuletzt erwähnte Differenz wieder durch die größere Empfindlichkeit des „arbeitenden“ Enzyms gegenüber dem „ruhenden“ erklärt werden könnte¹³⁾.

4. Beeinflussung der Reaktionsgeschwindigkeit durch Phosphat- und Glykokoll-Zusatz wurde bei Gelegenheit der Versuche des vorausgehenden Abschnitts beobachtet. Fig. 6 enthält das Ergebnis einiger Versuche mit jeweils 0,5 mg Enzym von

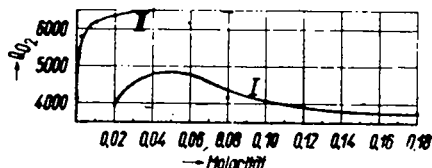


Fig. 6. Beeinflussung der Reaktionsgeschwindigkeit durch Phosphat- (I) und durch Glykokoll-Zusatz (II).

$Q_{O_2} = 4130$ unter Zugrundelegung des Normalansatzes bei p_H 6,8. Bemerkenswert ist insbesondere die aktivierende Wirkung des Glykokolls, die schon bei $m/1000$ 30 %, bei $m/25$ 60 % Steigerung gegenüber dem zusatzfreien Ansatz ausmacht.

^{11b)} Nach Raistrick u. Mitarb.⁶⁾ sowie Doisy u. Mitarb.⁷⁾ haben Notatin bzw. Penicillin B ganz ähnliche Stabilitätsgrenzen.

¹²⁾ Vgl. ähnliche Analysen mit dem Ergebnis reversibler und irreversibler Enzymschädigung bei extremen p_H -Werten an der Tyraminase (Monoaminoxidase) (M. L. C. Bernheim-Hare, Biochem. J. 22, 963; 1928) und an der Oxaloxydase (W. Franke, F. Schumann u. B. Banerjee, Hoppe-Seylers Z. 278, 24; 1943).

¹³⁾ Eine weniger wahrscheinliche, aber noch nicht ausgeschlossene Interpretation der Aktivitäts- p_H -Kurve als Dissoziationsrestkurve eines „Enzym-Ampholyten“ (vgl. z. B. R. Kuhn bei C. Oppenheimer, Die Fermente u. ihre Wirkungen, I. S. 197 ff., Leipzig 1925) müßte erst noch eingehender geprüft werden.

¹⁴⁾ Näheres s. III. Mitt.⁹⁾

Im ersteren Falle wurde unmittelbar die O_2 -Aufnahme durch 0,5 mg eines gereinigten Enzympräparates ($Q_{O_2} = 5000$) in Ansätzen von verschiedenem pH, im übrigen aber dem Normalansatz entsprechend, festgestellt, im letzteren erst, nachdem das Enzym zunächst 30 Min. bei 20° in den verschiedenen Pufferlösungen gehalten und anschließend Glucose zugegeben und pH 6,8 (durch Phosphatzusatz) eingestellt worden war.

Die fast symmetrische Aktivitäts- p_H -Kurve I entspricht im wesentlichen früheren, an unreinem Enzym erhobenen Befunden von Müller¹⁾ und Franke und Lorenz^{2a)}. Bei der Stabilitäts- p_H -Kurve II, die leider nur einmal aufgenommen werden konnte, läßt sich trotz der erheblichen, wenigstens z. T. auf Pufferspezifitäten und ungleiche Ionenkonzentrationen (s. unten) zurückgehenden Schwankungen immerhin deutlich eine Stabilitätszone zwischen p_H 2,5 und 8 feststellen^{11b)}. Jenseits dieser Grenzen läuft die Stabilitäts- der Aktivitätskurve im wesentlichen parallel, doch über der letzteren. Es scheint also, daß der Abfall der Aktivitätskurve bei extremen p_H -Werten durch irreversible Fermentschädigung bedingt ist¹²⁾, wobei die zuletzt erwähnte Differenz wieder durch die größere Empfindlichkeit des „arbeitenden“ Enzyms gegenüber dem „ruhenden“ erklärt werden könnte¹³⁾.

4. Beeinflussung der Reaktionsgeschwindigkeit durch Phosphat- und Glykokoll-Zusatz wurde bei Gelegenheit der Versuche des vorausgehenden Abschnitts beobachtet. Fig. 6 enthält das Ergebnis einiger Versuche mit jeweils 0,5 mg Enzym von

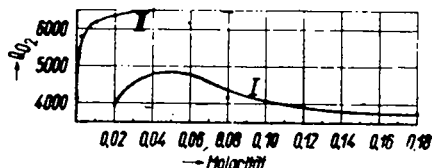


Fig. 6. Beeinflussung der Reaktionsgeschwindigkeit durch Phosphat- (I) und durch Glykokoll-Zusatz (II).

$Q_{O_2} = 4130$ unter Zugrundelegung des Normalansatzes bei p_H 6,8. Bemerkenswert ist insbesondere die aktivierende Wirkung des Glykokolls, die schon bei m/1000 30 %, bei m/25 60 % Steigerung gegenüber dem zusatzfreien Ansatz ausmacht.

^{11b)} Nach Raistrick u. Mitarb.⁶⁾ sowie Doisy u. Mitarb.⁷⁾ haben Notatin bzw. Penicillin B ganz ähnliche Stabilitätsgrenzen.

¹²⁾ Vgl. ähnliche Analysen mit dem Ergebnis reversibler und irreversibler Enzymschädigung bei extremen p_H -Werten an der Tyraminase (Monoaminoxidase) (M. L. C. Bernheim-Hare, Biochem. J. 22, 963; 1928) und an der Oxaloxydase (W. Franke, F. Schumann u. B. Banerjee, Hoppe-Seylers Z. 278, 24; 1943).

¹³⁾ Eine weniger wahrscheinliche, aber noch nicht ausgeschlossene Interpretation der Aktivitäts- p_H -Kurve als Dissoziationsrestkurve eines „Enzym-Ampholyten“ (vgl. z. B. R. Kuhn bei C. Oppenheimer, Die Fermente u. ihre Wirkungen, I. S. 197 ff., Leipzig 1925) müßte erst noch eingehender geprüft werden.

¹⁴⁾ Näheres s. III. Mitt.⁹⁾

B. Zur Enzymdarstellung und -reinigung

1. Grundoperationen

Zur Enzymgewinnung wurden drei *Penicillium*-Stämme verwendet, die sich bei der Prüfung von über 40 *Penicillium*- und *Aspergillus*-Stämmen verschiedener Herkunft¹⁴⁾ als die aktivsten erwiesen hatten. Es waren dies

Pen. glaucum 2 (Institut für Gärungsgewerbe, Berlin)

Pen. glaucum 312 (Fa. Knoll A.-G., Ludwigshafen)

Pen. notatum (Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn).

Irgendwelche grundsätzlichen Unterschiede im Verhalten von *Pen. glaucum* und von *Pen. notatum* wurden nicht beobachtet.

Aufgearbeitet wurde sowohl das *Mycel* als auch die *Kulturlösung*. Das in der letzten Mitteilung³⁾ angeführte Resultat, daß aus beiden ungefähr die gleiche Menge Enzym gewonnen werden kann (wobei das *Mycel*enzym aber im allgemeinen aktiver erhalten wird, vgl. Tab. 7, S. 211), wurde noch des öfteren bestätigt. Der Aufarbeitungsgang war in der Mehrzahl der Fälle der ebendort und an anderem Orte⁴⁾ eingehend beschriebene (Na_2HPO_4 -Extraktion des zerkleinerten *Mycels*, Eindunsten der Extrakte bzw. Kulturlösungen i. V.; Dialyse und Alkohol-Ätherfällung).

Die Aktivität der so erhaltenen Rohpräparate lag mit recht erheblichen Schwankungen, deren Ursache zumeist nicht festgestellt werden konnte,

bei <i>Pen. glaucum</i> 2 zwischen	Q_{O_2} = 250 und 3500
„ <i>Pen. glaucum</i> 312 „ „	= 270 „ 1070
„ <i>Pen. notatum</i> „ „	= 220 „ 740.

Trotz seltener Überimpfung der Stammkulturen (alle 1–2 Monate) lag das Aktivitätsniveau der in den späteren Phasen der Arbeit (1944/45) erhaltenen Präparate durchweg höher als am Anfang (1943/44).

Im allgemeinen wurden pro Charge 15–20 l Nährlösung (mit 4 % techn. Glucose) in 75–100 Petrischalen (Bodenfläche je ca. 500 qcm) bei 30° 4–6 Tage bebrütet; nach dieser Zeit wurden 350–700 g Preßmycel (mit einem Trockengewicht von ca. 37 %) geerntet, aus denen sich 1–6 Millionen Enzymeinheiten (E.E. = mg Enzympräparat $\times$ Q_{O_2}) isolieren ließen. Der Quotient E.E./g Preßmycel lag in einer größeren Reihe von Ansätzen

bei <i>Pen. glaucum</i> 2 zwischen	4000 und 20000
„ <i>Pen. glaucum</i> 312 „ „	2600 „ 10000
„ <i>Pen. notatum</i> „ „	1900 „ 11000.

2. Weitere Anreicherungsverfahren

Neben den bereits in der Einleitung erwähnten Enzymreinigungsverfahren gelangte noch die Adsorption an Aluminiumhydroxyd C_7 zur Anwendung. Nachstehend wird über die mit den verschiedenen Methoden erzielten Ergebnisse berichtet.

a) Die Fraktionierung mit Aceton wurde zur Reinigung von Rohpräparaten am häufigsten angewandt. Sie führt bei Präparaten geringen ($\text{Q}_{\text{O}_2} < 200$) und mittleren Reinheitsgrads ($\text{Q}_{\text{O}_2} < 800$) unter mäßigen Verlusten (20–35 %) in wenigen Stunden zu zwei- bis mehrfach angereicherten Trockenpräparaten.

Meist wurde das Ausgangsmaterial in der 20fachen Gewichtsmenge destill. Wassers gelöst, die Lösung zentrifugiert und im Kälteraum (3–5°) nacheinander mit dem 0,4-, 0,4- und 0,8fachen Volumen vorgekühlten Acetons (bezogen auf das Ausgangsvolumen) gefällt. Die abzentrifugierten Niederschläge wurden im Vakuumexsikkator möglichst rasch zur Trockene gebracht. Nachstehend folgt ein typisches Versuchsergebnis.

Tab. 2

	mg	Q _{O₂}	E.E.	%
Ausgangsmaterial	25000	330	8250000	100
Produkte:				
Rückstand	6420	104	667700	8,1
I. Fraktion	1282	195	250000	3,3
II. „	3350	1380	4623000	56,0
III. „	5830	93	542200	6,6
	10882		6082900	74,0

Bei noch aktiverem Ausgangsmaterial arbeitet das Verfahren weniger effektiv und wird verlustreich, wie das in Tab. 3 wiedergegebene Versuchsprotokoll zeigt. Q_{O₂}-Werte > 2000 ließen sich durch Acetonfraktionierung kaum erreichen.

Tab. 3

	mg	Q _{O₂}	E.E.	%
Ausgangsmaterial	500	1380	690000	100
Produkte:				
Rückstand	38	266	7450	1,1
I. Fraktion	25	1600	40000	5,8
II. „	232	1320	306000	45,5
III. „	37	110	4070	0,6
	332		357520	52,0

b) Die fraktionierte Ammonsulfatfällung war schon in der II. Mitt.²⁾ mit Erfolg zur Enzymreinigung herangezogen worden. Doisy und Mitarb.^{7b)} gaben später an, daß ihr Penicillin B bei Halbsättigung der Lösung mit (NH₄)₂SO₄ nicht, bei Dreiviertelsättigung fast vollständig ausgefällt würde. Unsere an der Glucoseoxydase neuerdings erhaltenen Ergebnisse waren nicht eindeutig und befriedigend. Von den nicht unerheblichen Fermentverlusten (30–45 %) ganz abgesehen, gelang es gerade bei vorgereinigtem Material (Q_{O₂} > 800) selbst bei Vollsättigung mit (NH₄)₂SO₄ nicht annähernd, eine vollständige Enzymabscheidung durchzuführen, vielmehr blieb der größere Teil des Enzyms in der Restlösung zurück. Dies belegt an einem Beispiel Tab. 4.

Tab. 4

2 g Enzym ($Q_{O_2} = 833$) gelöst in 40 ccm H_2O und zentrifugiert; in zwei Portionen festes $(NH_4)_2SO_4$ bis zu den Sättigungsgraden 66 und 100 % zugegeben. Niederschläge abzentrifugiert und dialysiert.

	mg	Q_{O_2}	E.E.	%
Ausgangsmaterial	2000	833	1666000	100
Produkte:				
Rückstand.	500	400	200000	12,0
I. Fraktion.	77	1600	123000	7,4
II. „	60	1850	111000	6,7
Restlösung	1066	662	700000	42,0
	1693		1134000	68,1

Dieses Ergebnis steht in ungeklärtem Widerspruch zu einem einzelnen in der II. Mitt. zitierten Versuch an vorgereinigtem Ferment ($Q_{O_2} = 1215$); es ist jedoch wiederholt bestätigt worden. Günstiger scheinen die Fällungsverhältnisse für rohes Enzym zu liegen. So wurden bei Ausgangsmaterial von $Q_{O_2} = 50$ 28 % mit ca. 10facher Anreicherung bei $(NH_4)_2SO_4$ -Sättigung abgeschieden, während in der Lösung 17 % verblieben. Dieses Ergebnis steht der Richtung nach in annähernder Übereinstimmung mit einem gleichfalls in der II. Mitt. angegebenen Fällungsversuch an Rohenzym ($Q_{O_2} = 98$).

c) Adsorption an Aluminiumhydroxyd C_7 erwies sich als ein Verfahren, das auch bei gereinigtem Ferment zu weiterer starker Anreicherung führt^{14a)}. Leider scheint das Enzym in den Eluat, nach der Kinetik zu schließen, ziemlich labil zu sein. Tab. 5 und 5a geben die Hauptdaten zweier Adsorptions- und Elutionsversuche.

Tab. 5

250 mg ($Q_{O_2} = 1080$) gelöst in 100 ccm m/10-Phosphatpuffer (p_H 5,2), zentrifugiert und mit 30 ccm einer $Al(OH)_3$ -Suspension von 0,95 % Al_2O_3 -Gehalt versetzt. Adsorbat 3mal je 30 Min. mit 40 ccm m/10-Phosphatpuffer (p_H 7,9) eluiert.

	mg	Q_{O_2}	E.E.	%
Ausgangsmaterial	250	1080	270000	100
Produkte:				
Rückstand.	17	230	3950	1,5
Restlösung	87,5	1000	87500	32,3
I. Elution	12,4	6500	80500	31,5
II. „ } des Ad-	8,4	1200	10200	3,8
III. „ } sorbats	10,4	310	3250	1,2
	135,7		185400	70,3

^{14a)} Versuche zur Adsorptionsreinigung (mit Al-oxyd nach Brockmann und Tricalciumphosphat) sind von Pénaud, Levaditi u. Hagemann⁸⁾ unternommen worden, offenbar ohne Erfolg. Andererseits soll „ein vollkommen neues Fixierungsverfahren durch geeignete Adsorbentien“ kombiniert mit Acetonfällung bei -10° „ohne Verlust“ zu bakteriostatisch hochaktiven Präparaten führen.

Tab. 5a

Zur Lösung des Enzyms 100 cem m/10-Acetattuffer (p_H 5,0), zur Elution 5ma. je 40 cem m/10-Na-Acetatlösung (p_H ca. 7,9) verwendet. Übrige Daten wie oben.

	mg	QO ₂	E.E.	%
Ausgangsmaterial	250	1080	270000	100
Produkte:				
Rückstand		nicht bestimmt		
Restlösung	76,8	193	14800	5,5
I. Elution	12,4	2700	34500	12,8
II. „	8,8	5000	44000	16,3
III. „	6,8	5050	34400	12,7
IV. „	6,4	5260	33500	12,4
V. „	7,4	3750	27600	10,2
	118,6		188800	69,9

Die Unterschiede im Ablauf von Adsorption und Elution in Abhängigkeit von Lösungsmittel und Eluens sind bemerkenswert; der Endeffekt der Enzymreinigung ist dabei trotzdem nicht sehr verschieden.

Es sei noch erwähnt, daß die vereinigten Eluate II—IV des letzten Versuchs bei Aufbewahrung im Eisschrank innerhalb von 2 Wochen $\frac{1}{5}$, innerhalb von 4 Wochen $\frac{1}{3}$ der Ausgangsaktivität (QO₂ 5100) verloren. Dagegen sank die Aktivität des „arbeitenden“ Enzyms im Normalversuch schon innerhalb einer Stunde in ähnlichem Umfang. (Vgl. S. 205 u. 206.)

d). Die Adsorptionsfällung mit Benzoesäure ist von Doisy und Mitarb.⁷⁾ für die direkte Aufarbeitung von Kulturlösungen auf Penicillin B angegeben worden. Wir haben die Methode, die mit der Acetonfällung den Vorteil, unmittelbar salzfreie Trockenpräparate zu liefern, gemeinsam hat, auch zur Fraktionierung vorgereinigten Enzyms angewandt. Über das Ergebnis unterrichtet Tab. 6.

Tab. 6

5 g Enzym (QO₂ = 222) in 100 cem H₂O gelöst, zentrifugiert und bei 4° 3mal mit je 20 cem gesättigter alkoholischer Benzoesäurelösung versetzt. Enzym-Benzoesäure-Adsorbate jeweils mit 30 cem Aceton bei 4° zerlegt und Enzym abzentrifugiert.

	mg	QO ₂	E.E.	%
Ausgangsmaterial	5000	222	1110000	100
Produkte:				
Rückstand	810	124	100400	9,0
I. Fraktion	325	403	140000	12,8
II. „	325	470	153000	13,8
III. „	185	374	69200	6,3
	1645		462600	41,9

Das ersichtlich verlustreiche Verfahren zeigt keine Vorteile etwa gegenüber der Acetonfraktionierung und wurde daher in dieser Form nicht weiter angewandt. Wohl aber konnten wir die Angaben Doisy's über die Eignung der Methode zur Abscheidung des Ferments aus Kulturlösungen bestätigen. Sie erspart das zeitraubende und dauernd kontrollbedürftige Eindampfen der großen Flüssigkeitsvolumina i. V. und liefert in vergleichbarer Ausbeute (an Enzymeinheiten) fast stets ein reineres Enzym als das Eindampfverfahren, wie die Gegenüberstellung einiger Parallelaufarbeitungen in Tab. 7 zeigt.

Tab. 7

Eindampfverfahren wie früher [S. 207 und l. c.³⁾] beschrieben. Zur Benzoesäurefällung im Kälteraum auf 1 l Kulturlösung von pH 3,5 50 ccm gesättigte alkoholische Benzoesäurelösung zusetzen, Fällung auf der Nutsche abfiltrieren, den noch feuchten Kristallkuchen mit der zur Lösung der Benzoesäure ausreichenden Menge kalten Acetons behandeln, Enzymrückstand abzentrifugieren, mit Aceton nachwaschen und i. V. trocknen.

Pilzstamm	QO_2 des Mycel-enzym	l Kultur-lösung	QO_2		E.E.	
			Eindampf- verfahren	Benzoe- säurefällg.	Eindampf- verfahren	Benzoe- säurefällg.
<i>Pen. glaucum</i> 2	366	6	114	428	312000	424000
" " 2	715	9	166	393	226000	120000
" " 2	619	8,5	522	542	517300	370000
" " 312	1250	9	715	437	391100	375800

e) Die Fällung mit Reinecke-Salz ($NH_4[Cr(NH_3)_2(CNS)_3]$) ist von Raistrick und Mitarb.⁶⁾ ohne nähere experimentelle Angaben zur Reinigung des Notatins empfohlen worden. Wir haben einige orientierende Versuche an Glucoseoxydase ausgeführt, in denen zwar erhebliche Anreicherungen, aber nur sehr schlechte Enzymausbeuten in der Fällung erzielt wurden (Tab. 8). Wir haben die Methode daher nicht weiter verfolgt.

Tab. 8

1 g Enzym ($QO_2 = 520$) in 20 ccm H_2O gelöst, zentrifugiert und mit 5 ccm kalt gesättigter Reinecke-Salzlösung (ca. 5proz.) versetzt. Niederschlag abzentrifugiert und mit 5 ccm Aceton zerlegt, in dem das Komplexsalz löslich ist. Rückstand zentrifugiert, mit Aceton gewaschen und i. V. getrocknet.

	mg	QO_2	E.E.	%
Ausgangsmaterial	1000	520	520000	100
Produkte:				
Rückstand.	46	222	10200	2,0
Fällung	27	1700	41700	8,0
	73		51900	10,0

f) *Fällung mit Uranylacetat*. Dieses Verfahren ist in der II. Mitt. von Doisy und Mitarb.^{7b)} als der Benzoesäurefällung von Penicillin B überlegen beschrieben worden. In der Tat lieferte es auch bei unseren Fermentreinigungsvorversuchen ausgezeichnete Resultate, und zwar auf vorgereinigtes Enzym sowohl wie auf Kulturlösungen angewandt. Bei den letzteren lassen allerdings in manchen Fällen die Ausbeuten zu wünschen übrig. In Tab. 9 folgen einige Angaben über den Verlauf einer Enzymreinigung.

Tab. 9

100 mg Enzym ($Q_{O_2} = 1200$) in 5 ccm H_2O gelöst, zentrifugiert und mit 2 ccm 1proz. Uranylacetat-Lösung bei p_H 3,5 gefällt. 2mal mit je 5 ccm H_2O gewaschene Fällung 2mal je 3 Std. mit 1 ccm m/6-Phosphatpuffer p_H 6,8 eluiert, Eluato vereinigt.

	mg	Q_{O_2}	E.E.	%
Ausgangsmaterial	100	1200	120000	100
Produkte:				
Rückstand	9,1	220	2000	1,5
Fällung	20,5	2260	47000	39,0
	29,6		49000	40,5

In einem anderen Versuch wurde 1 l Kulturlösung von *Pen. glaucum* 312 — das Mycelenzym hatte $Q_{O_2} = 1070$ gezeigt — mit 25 ccm 1proz. Uranylacetat-Lösung gefällt und wie oben weiterverarbeitet. In den Eluaten waren 41250 E.E. mit der erstaunlich hohen Aktivität $Q_{O_2} = 3750$ enthalten. In anderen Fällen wiederum lagen die Aktivitäten nur etwas höher als die der Benzoesäurefällungen.

g) *Die Tanninfällung*, von Raistrick und Mitarb.⁶⁾ ohne nähere Angaben als wirksam empfohlen, scheint nach unseren Erfahrungen der Uranfällung ungefähr gleichwertig zu sein, wie dies der Versuch der Tab. 10, in dem das gleiche Enzym wie im Versuch der Tab. 9 zur Anwendung kam, belegt.

Tab. 10

1 g Enzym ($Q_{O_2} = 1200$) in 25 ccm H_2O gelöst, zentrifugiert und mit 25proz. Tanninlösung bei p_H 3,5 in geringem Überschuß (Prüfung mit $FeCl_3$) gefällt. Niederschlag 2mal mit je 5 ccm Aceton digeriert, zentrifugiert und i. V. getrocknet.

	mg	Q_{O_2}	E.E.	%
Ausgangsmaterial	1000	1200	1200000	100
Produkte:				
Rückstand	52	235	12400	1,1
Fällung	285	2150	615000	51,3
	337		627400	52,4

Die Fällung von Kulturlösungen mit Tannin — wir verwendeten zwischen 0,25 und 0,60 g/l — scheint ein schlecht reproduzierbares Verfahren zu sein, bei dem manchmal starke Aktivitäts- und Enzymverluste auftreten. Wir geben in Tab. 11 zwei Beispiele mit mäßigem bzw. befriedigendem Erfolg.

Tab. 11

Pilzstamm	QO ₂ des Mycelenzym	1 Kulturlösung	mg Enzym	QO ₂	E.E.
<i>Pen. glaucum</i> 2 .	3500	6	150	504	76000
<i>Pen. notatum</i> .	736	6	211	620	131000
(Zum Vergleich <i>Benzoessäurefällung</i> :					
	736	6	399	273	109000)

II. Antibakterielle Wirkungen

A. Testmethode

Nach den lediglich orientierenden Versuchen der III. Mitt. erschien es uns als wichtigste Aufgabe, zunächst die Bedingungen des Tests zu variieren und dann möglichst optimal zu gestalten. Zu diesem Zwecke haben wir den Einfluß einer Variation im p_H der Nährlösung, im Nährsubstrat selbst, in der Glucosekonzentration, in der Bebrütungsdauer und im Bakterienstamm auf die Wachstumsgrenze untersucht.

1. *Einfluß des p_H* . Im Hinblick auf das schwach saure Wirkungsoptimum der Glucoseoxydase lag es nahe, das p_H der Nährlösung ziemlich tief zu halten, wobei allerdings ein sicheres Angehen der Bakterienaussaat begrenzender Faktor war. Wir geben in Tab. 12 als Beispiel für das allgemeine Verfahren ein etwas ausführlicheres Protokoll.

Tab. 12

Nährlösung (S. 201) mit verd. H_3PO_4 auf die (elektrometrisch kontrollierten) p_H -Werte 5,5, 6,4 und 7,3 gebracht. Enzymlösung hergestellt durch Auflösen von 20 mg Enzympräparat ($QO_2 = 2000$) in 10 ccm sterilem H_2O , 100faches Verdünnen¹⁵⁾ von 1 ccm dieser „Stammlösung“ mit sterilem H_2O und Filtrieren dieser Lösung durch ein bakteriendichtes Schott-Filter unter sterilen Bedingungen. Zugabe der Enzymlösung zur beimpften Nährlösung (5 ccm) mittels steriler Mikropipette. Nach 24 Std. bei 37° fehlende oder eingetretene Trübung der Nährlösung durch 0, +, ++ oder +++ bezeichnet.

p_H	ccm Enzymlösg./5 ccm	0,1	0,05	0,025	0,01	0
	mg Enzym/5 ccm	0,002	0,001	0,0005	0,00025	0
	Verdünnung 1:	2500000	5000000	10000000	25000000	∞
5,5		0	++	++	++	++
6,4		0	++	++	++	++
7,3		0	++	++	++	++

¹⁵⁾ Der notwendige Verdünnungsgrad (10-, 100-, 1000fach) mußte jeweils in einem Vorversuch über die annähernde Wachstumsgrenze ausprobiert werden.

Ein Einfluß des p_H der Nährlösung war also im untersuchten Bereich nicht festzustellen. Bei den folgenden Versuchen wurde fast stets ein p_H zwischen 6,0 und 6,5 eingestellt.

2. *Einfluß des Nährsubstrats und der Glucosekonzentration.* Es wurden untersucht *Nährbouillon* (Standard Merck I), *Peptonwasser* (Pepton-Witte) und *Hefewasser*. Das letztere schied aus, da unsere *Staph. aureus*-Stämme darauf nicht oder nur unregelmäßig angingen. Bei den beiden erstgenannten Substraten wurde gleichzeitig auch die Glucosekonzentration variiert. Das Ergebnis zeigt die Doppeltab. 13.

Tab. 13

20 mg Enzym ($Q_{O_2} = 3000$) in 20 ccm Stammlösung 10- bzw. 100fach verdünnt.

Verdünnung 1:	1000000	2000000	5000000	10000000	25000000	∞
Glucose konz. in %						

a) Peptonwasser.

0	+	+	+	+	+	+
0,5	0	0	0	++	++	++
1,0			0	0	++	++
2,5			0	0	++	++
5,0			0	0	++	++

b) Nährbouillon

0	++	++	++	++	++	++
0,5	0	0	++	++	++	++
1,0			0	0	++	++
2,5			0	0	++	++
5,0			0	0	++	++

In einem Ergänzungsversuch wurde gezeigt, daß *ohne* Glucosezusatz in beiden Nährmedien auch bei einer Enzymverdünnung von 1: 100000 noch normales Wachstum eintrat.

Die Wachstumsgrenzen sind bei Peptonwasser und Nährbouillon praktisch dieselben. Wir entschieden uns bei weiteren Versuchen für das erstere Medium als das einfacher zusammengesetzte, zumal auf verschiedenen während des Kriegs gelieferten Präparaten von Merckscher Nährbouillon einige Staphylokokkenstämme nicht oder nur schwierig angingen.

3. *Der Einfluß der Bebrütungsdauer* geht dahin, daß sich bei ihrer Verlängerung im allgemeinen die Wachstumsgrenze nach geringeren Verdünnungen verlagert, allerdings in quantitativ nicht gut reproduzierbarer Weise. In Tab. 14 ist der Effekt für zwei verschiedene Enzympräparate (I $Q_{O_2} = 300$, II $Q_{O_2} = 1000$) zur Anschauung gebracht.

Tab. 14

Verdünnung Präparat	1: 200000	500000	1000000	2000000	5000000	∞
a) nach 24 Stunden						
I	0	0	0	+	+	++
II	0	0	0	0	0	++
b) nach 56 Stunden						
I	0	0	0	++	++	++
II	0	0	0	0	++	++
c) nach 144 Stunden						
I	0	0	++	++	++	++
II	0	0	0	+	++	++

4. Der Einfluß des Bakterienstamms wurde an 4 verschiedenen Stämmen von *Staph. aureus* untersucht^{15a)}. Es ergab sich bei Verwendung eines Enzympräparates $Q_{O_2} = 3000$ für sämtliche Stämme Wachstumshemmung bei der Verdünnung 1:1000000. Bei Wiederholungsreihen schwankte dieser Wert höchstens zwischen 1:5 und 1:10 Millionen¹⁶⁾. Auf Grund dieses Ergebnisses wurde weiterhin immer der gleiche Staphylokokkenstamm (Knoll a) verwendet.

Über das Verhalten gramnegativer Bakterien wurden nur einige orientierende Versuche angestellt. Das obige Präparat war gegen *B. coli* in der Verdünnung 1500000, gegen *B. prodigiosum* bei 1:25000, gegen *B. Salmonella* bei 1:10000 noch nicht wirksam. Die geringere Empfindlichkeit der Gramnegativen haben auch Doisy u. Mitarb.^{7b)} beim Penicillin B festgestellt.

5. Weitere Bemerkungen zur Testmethode. Die Methode der Verdünnungsreihen ist zweifellos nicht sehr genau^{16a)}. Schwankungen der Wachstumsgrenze um 1 Teströhrchen müssen in Parallelversuchen ohne weiteres in Kauf genommen werden. Das bedeutet bei der ziemlich groben Verdünnungsskala Konzentrationsvariationen ums 2—2½fache. Durch mehrmalige Wiederholung des gleichen Versuchs läßt sich diese Unsicherheit verringern.

Eine weitere Fehlerquelle beim Vergleich enzymatischer und antibakterieller Wirkungen liegt in der Sterilfiltration der Enzymlösungen. Wir haben die Q_{O_2} -Werte im allgemeinen an zentrifugierten, nicht an

^{15a)} Drei dieser Stämme verdanken wir Herrn Dr. Biehler vom Pharmakol.-Laboratorium der Fa. Knoll A.-G., Ludwigshafen, den vierten Herrn Doz. Dr. Reinhardt, Prag.

¹⁶⁾ Ein weiterer *Staph.-aureus*-Stamm (Heidelberg) ergab überraschenderweise unter den gleichen Bedingungen eine Wachstumsgrenze bei 1:20000; bei der mikroskopischen Kontrolle zeigte er sich in geringem Maße durch Stäbchenbakterien verunreinigt. Wie hier, so wurde stets in Zweifelsfällen das Mikroskop zu Rate gezogen.

^{16a)} Vgl. die grundsätzlichen Ausführungen R. Prigges, Klin. Wschr. 19, 100 (1940).

filtrierten Lösungen bestimmt. Bei der Filtration kann sich sowohl das Trockengewicht als auch die enzymatische Aktivität ändern, wodurch sich die Bezugsbasis des Aktivitätsvergleichs verschiebt. Im allgemeinen sind nach unseren Erfahrungen diese Änderungen, zumal bei den meist verwendeten Alkohol-Äther- und Acetonfällungen, nicht groß.

So sank in drei Versuchen mit 6maligem Durchfiltrieren einer Enzymlösung vom Ausgangswert $Q_{O_2} = 3330$ durch je 3 Schott-Nutschen der Q_{O_2} -Wert (ohne Trockengewichtskontrolle) auf 2200, resp. 2450 und 2600.

In anderen Fällen aber (z. B. bei Tanninfällungen) scheinen diese Aktivitätsabnahmen erheblich zu sein. Ferner steigen sie im allgemeinen an bei mehrmaliger Verwendung der gleichen Nutsche zur Filtration, da wir zwecks Zeitersparnis und Schonung der Nutschen diese — nach Durchspülung mit destilliertem Wasser — mehrmals verwendeten und erst nach etwa 3maligem Gebrauch mit heißer konz. H_2SO_4 reinigten. Die Filtrationsgeschwindigkeit nimmt bei öfterer Verwendung der Nutschen gleichfalls erheblich ab.

Erst in einer späteren Phase der Untersuchung fanden wir, daß sich die sterilisierende Filtration umgehen läßt, indem man die Enzymlösungen 1—5 Std. unter öfterem Umschütteln mit *Chloroform* behandelt und dann von diesem abgießt. Bei Verwendung eines Präparats $Q_{O_2} = 2027$ fanden wir sowohl nach der Filtrations- wie nach der Chloroformmethode die gleiche Wachstumsgrenze bei einer Verdünnung von 5—10 Millionen. $CHCl_3$ -gesättigtes Wasser zeigte auch in 10facher Menge keinen Hemmungseffekt.

B. Versuchsergebnisse

1. Bakteriostatische Reihenversuche

Der größte Teil unserer bisherigen Versuche über die bakteriostatische Wirkung von Enzympräparaten ist in Fig. 7 zur Darstellung

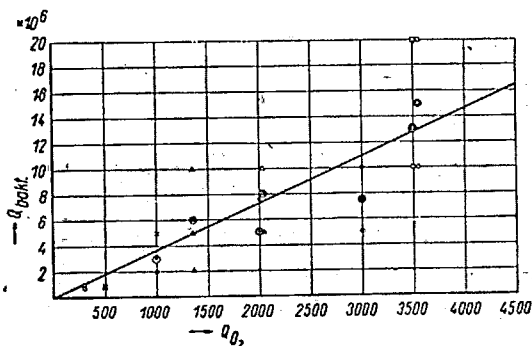


Fig. 7. Beziehungen zwischen oxydatischer (Q_{O_2}) und bakteriostatischer (Q_{bact}) Aktivität verschiedener Präparate.

- | | | | | | |
|---|---------------------------|-----------------------|---------------------------|---|---|
| ○ | { Aceton-Fraktionierungen | △ | { Alkohol-Äther-Fällungen | ▲ | { Aceton-Fraktionierung + Benzoesäure-Fällung |
| * | | □ | | | |
| x | | | | | |
| + | | | | | |
| • | | ◇ Ammonsulfat-Fällung | ▽ Uran-Fällung | | |

gebracht. Es handelt sich zumeist um Alkohol-Äther-Fällungen und Produkte der Acetonfraktionierung sowie eine Ammon-sulfatfällung. Nähere Angaben enthält die Legende zu Fig. 7. Angegeben sind als Ordinaten die experimentell gefundenen Q_{bact} -Werte, d. h. die das Bakterienwachstum gerade noch unterbindenden Verdünnungen, als Abszissen die $Q_{0.2}$ -Werte. Da von den meisten Präparaten die Wachstumsgrenze mehr als zweimal bestimmt worden ist, ist der Mittelwert dieser Bestimmungen — mit einem Kreis umgeben — ebenfalls eingetragen worden.

Berücksichtigt man die oben erwähnten großen Versuchsfehler sowie eine gewisse Unsicherheit älterer, mit zu großer Enzymmenge bestimmter $Q_{0.2}$ -Werte (S. 202 u. 215) — wozu noch die einstweilen nicht berücksichtigte Rolle wechselnden *Katalase*-gehalts der Präparate kommt (Näheres S. 218/219) —, dann bleibt doch als Hauptergebnis der Fig. 7 eine annähernde Proportionalität von enzymatischer und bakteriostatischer Wirkung bestehen, wie sie andeutungsweise schon in der letzten Mitteilung³⁾ beobachtet worden war¹⁷⁾. Danach wäre also die Glucoseoxydase *identisch* mit dem bakteriostatisch wirksamen Agens (Penatin, Notatin, Penicillin B).

Es soll hier aber nicht verschwiegen werden, daß bei einigen weiteren Präparaten diese Beziehung zwischen $Q_{0.2}$ und Q_{bact} durchbrochen war, ohne daß die Ursache — die nicht immer die gleiche zu sein braucht — ausreichend geklärt werden konnte.

Hier sei beispielsweise der Fall einer *Tanninfällung* $Q_{0.2} = 2150$ (S. 212) erwähnt, die in zwei zu verschiedenen Zeiten ausgeführten Versuchen nur die Q_{bact} -Werte 20000 und 50000 aufwies, während nach Fig. 7 etwa das 200fache zu erwarten gewesen wäre. Wir halten es für wahrscheinlich, daß Präparate dieser Darstellungsweise, die eine Tendenz, in Wasser unlöslich zu werden, zeigen, die Bakterienfilter mit der Porengröße $1-2\mu$ nur zum kleinen Teil passieren. Ähnliches gilt vielleicht für eine Reinecke-Salzfällung ($Q_{0.2} = 1700$, $Q_{\text{bact}} = 10000$).

In anderen Fällen scheint die besondere *Unbeständigkeit* von Enzympräparaten zu Diskrepanzen zu führen, zumal die bakteriostatische Prüfung meist erst mehrere Tage nach der enzymatischen erfolgte. Dieser Fall dürfte z. B. gegeben sein beim Eluat einer *Uranfällung* ($Q_{0.2} = 5100$), das im ersten Wachstumsversuch ein Q_{bact} von 10000000, tags darauf aber nur mehr von 1000000 ergab. Ähnliches gilt für das Eluat einer $Al(OH)_3$ -Adsorption ($Q_{0.2} = 6500$, S. 209), die anfangs $Q_{\text{bact}} = 8000000$ lieferte und dann gleichfalls enorm abfiel.

Ungeklärt bleibt die niedrige Aktivität $Q_{\text{bact}} = 200000$ einer eluierten *Benzoesäurefällung* von $Q_{0.2} = 1235$. Es ist immerhin auffallend, daß alle Präparate, die mit *konzentriertem Aceton* in Berührung gekommen sind, abnorm tiefe Wachstumsgrenzen zeigen. Vielleicht bewirkt diese Behandlung ein teilweises Unlöslichwerden (bei im wesentlichen erhaltener enzymatischer Aktivität), das erst bei der Filtration in Erscheinung tritt.

Eine gleichfalls ungeklärte, aber reproduzierbare Erscheinung wurde bei einem „Mischpräparat“ $Q_{0.2} = 1360$ (Alkohol-Äther- + Aceton- + Benzoesäurefällungen) beobachtet. Es zeigte einen normalen Q_{bact} -Wert von 6000000; bei 1:500000 bis 1000000 trat erneut Wachstum auf und bei 1:20000 zeigte sich eine zweite Wachstumsgrenze. Vielleicht überlagert hier ein *Wuchsstoffeffekt* den antibiotischen (siehe später S. 220):

¹⁷⁾ Q_{bact} ist jetzt in Präparaten vergleichbarer Wirksamkeit um 1—2 Größenordnungen höher als in den damaligen orientierenden Versuchen, in denen die Testbedingungen offenbar noch nicht optimal gewesen waren.

2. Zum Mechanismus der bakteriostatischen Wirkung

Es ist die allgemeine Auffassung der über hochmolekulare Mycoine arbeitenden Autoren^{3, 6, 7, 18, 18a}), daß *Hydroperoxyd* das eigentlich antibakteriell wirkende Agens bei ihrer Funktion ist und daß darum Abwesenheit merklicher Mengen von *Katalase* die Voraussetzung ihrer Wirksamkeit ist. Es schien in diesem Zusammenhang von Interesse, einmal den Katalasegehalt verschiedener Präparate von Glucoseoxydase vergleichend festzustellen. Dies geschah bei 30° im Ansatz der Tab. 15, die zugleich die zu verschiedenen Versuchszeiten gemessenen O₂-Volumina enthält.

Tab. 15

1 ccm Enzymlösung (= 0,05 mg), zuletzt zugekippt
 2 „ m/15-Phosphatpuffer pH 6,8
 1 „ m/13-H₂O₂
 1 „ H₂O

cmm O₂

Min.	Enzym- präparat	QO ₂				ohne Enzym
		305	430	1500	3000	
2,5		106	11	118	293	3
5		177	21	194	383	6
10		270	46	290	465	18
15		333	59	353	490	21
30		450	88	465	510	36
45		515	96	500	520	42
60		555	105	528	530	60

O₂-Kapazität des eingesetzten H₂O₂: 860 cmm.

Es besteht ersichtlich keine Beziehung zwischen QO₂ und Katalasegehalt der Enzympräparate. Während der letztere im Präparat QO₂=430 gering ist, ist er in den anderen Fällen in Anbetracht der kleinen Enzymmenge sehr beträchtlich¹⁹⁾.

Bildet man aus den 2,5 Min.-Werten (nach Abzug des Kontrollwerts ohne Enzym) die monomolekularen Reaktionskonstanten *k*_{kat}, umgerechnet auf 1 mg Enzym, so erhält man für das Enzym mit

QO ₂	305	430	1500	3000
<i>k</i> _{kat}	1,02	0,074	1,14	3,28.

¹⁸⁾ W. Kocholaty, Arch. Biochem. 2, 73 (1943).

^{18a)} K. Wallenfels, Chemie 58, 1 (1945).

¹⁹⁾ Deutlich ist auch die durch relativ hohe H₂O₂-Konzentration und Versuchstemperatur bei längeren Versuchszeiten hervorgerufene starke Enzymschädigung. Vgl. hierzu z. B. K. Zeile, Erg. Enzymforsch. 3, 265 (1934), im besonderen für Pilzkatalase P. Waentig u. o. Steche, Hoppe-Seylers Z. 76, 77 (1911).

Daraus läßt sich berechnen, daß bei Gegenwart von 1 mg Enzym nach 1 Minute vom eingesetzten H_2O_2 jeweils noch vorhanden sind²⁰⁾

in %	37	93	32	4.
----------------	----	----	----	----

Diese Werte lassen sich nun in annähernde Beziehung setzen zur oxydatischen Wirksamkeit der Präparate. Für katalasefreie Präparate, bei denen also Reaktionsgleichung I (S. 199) ausschließlich gilt, würde man erhalten aus

QO_2	305	430	1500	3000
cmM O_2	5,08	7,17	25,0	50,0
mg Enzym $\times$ Min.	0,23	0,32	1,12	2,24.
entspr. $\mu\text{Mol H}_2\text{O}_2/5 \text{ cm}$				

(In Wirklichkeit enthielten die von uns verwendeten Präparate stets mehr oder weniger große Mengen Katalase, reagieren als nach Gleichung



weiter. Für den Grenzfall, daß gar kein H_2O_2 nachweisbar ist²¹⁾, sind also die obigen Werte von QO_2 , cmM $\text{O}_2/\text{mg Enzym} \times \text{Min.}$ und $\mu\text{Mol H}_2\text{O}_2$ für die Primärreaktion zu verdoppeln. Bei den folgenden rohen Schätzungen soll dieser zwischen 1 und 2 liegende Faktor unberücksichtigt bleiben.)

Bei linearem Reaktionsverlauf beträgt die mittlere H_2O_2 -Konzentration während der 1. Minute für die 4 verschiedenen Präparate

$\mu\text{Mol H}_2\text{O}_2/5 \text{ cm}$	0,115	0,16	0,66	1,12.
--	-------	------	------	-------

Davon würden in erster Annäherung infolge gleichzeitiger Katalasewirkung nach 1 Min. noch vorhanden sein

$\mu\text{Mol H}_2\text{O}_2/5 \text{ cm}$	0,0425	0,149	0,179	0,045.
--	--------	-------	-------	--------

Wäre also die bakteriostatische Wirkung nur von der sich einstellenden H_2O_2 -Konzentration abhängig, dann würden einfache Beziehungen zum QO_2 -Wert der Präparate nicht mehr zu erwarten sein. Unsere Erfahrungen sprechen aber ersichtlich dagegen. So zeigte beispielsweise das Enzympräparat mit $\text{QO}_2 = 3000$ und besonders hohem Katalasegehalt die recht erhebliche und nicht eben anormale bakteriostatische Wirkung von $\text{Q}_{\text{bact}} = 800000$ (vgl. Fig. 7).

Nach diesen Befunden ist also Katalasefreiheit der Präparate keineswegs Voraussetzung ihrer antibakteriellen Wirksamkeit. Dazu kommt noch, daß auch *Staphylokokken* nach Untersuchungen von A. Fujita und T. Kodama²²⁾ beträchtliche Mengen Katalase enthalten. Zur Deutung der Befunde ist darauf hinzuweisen, daß Angaben, nach denen auch bei Katalasegegenwart peroxydatischer Verbrauch von H_2O_2 nachweisbar ist, in der Fermentliteratur keineswegs selten sind.

Es sei hier an die Sekundäroxydation leicht oxydabler Stoffe wie Nitrit, p-Phenylendiamin, Brenztraubensäure u. a. bei der Wirkung etwa der Aldehyd- bzw. Xanthin-

²⁰⁾ Dies gilt in allgemeinerer Form nur für niedere H_2O_2 -Konzentrationen (etwa $< 0,015 \text{ m}$), in deren Bereich k_{kat} annähernd konstant ist. Vgl. K. Zeile bei H. v. Euler, Chemie der Enzyme II, 3, S. 42f. (München 1934).

²¹⁾ Leider konnte die systematische Bestimmung der H_2O_2 -Bildung verschiedener Präparate nicht mehr vorgenommen werden. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß in der II. Mitt.²⁾ selbst unter optimalen Bedingungen ($\text{pH } 6$, $0,8 \text{ m-Glucose}$, reiner O_2) mit Enzym von $\text{QO}_2 = 830$ und 2500 nach 1 Std. nur 4 bzw. 7 % der nach Gleichung I zu erwartenden theoretischen H_2O_2 -Menge gefaßt werden konnten.

²²⁾ Biochem. Z. 232, 30 (1931).

dehydrase^{23, 24)} der Milch, der *Uricase*²⁴⁾, der *Aminosäuredehydrase*^{24, 25)}, der *Amindehydrasen*^{28, 27)}; der *Dioxymaleinsäuredehydrase*²⁸⁾ usw. erinnert. In der I. Mitt. dieser Reihe²⁴⁾ ist auch für Rohpräparate von *Glucoseoxydase* die gekoppelte Oxydation von p-Phenylendiamin nachgewiesen worden. Ferner haben Keilin und Hartree²⁴⁾ 1936 die überraschende Beobachtung gemacht, daß bei H_2O_2 -„Abfangversuchen“ mit *Alkohol* als Sekundärsubstrat Katalase *peroxydatisch* zu wirken vermag.

Allgemein gewinnt man den Eindruck, daß bei der Konkurrenz von katalatischem und peroxydatischem H_2O_2 -Umsatz der letztere bevorzugt erfolgt. Es spricht einstweilen nichts gegen die Auffassung, daß in der eben aufgezeigten Weise bei den bakteriostatischen Versuchen durch intermediär gebildetes H_2O_2 ein lebenswichtiger Bestandteil der Bakterien oder wahrscheinlicher eine Komponente der Nährlösung (etwa ein *Wuchsstoff*, z. B. Biotin) oxydiert und damit ausgeschaltet wird²⁹⁾. Ob bei gleichem Q_{O_2} wesentlich katalaseärmere Präparate erheblich größere bakteriostatische Effekte zeigen würden, ist noch nicht geprüft worden, aber wahrscheinlich.

Zuletzt sei noch die Frage nach Q_{O_2} - und Q_{bact} -Wert des reinen Wirkstoffs kurz gestreift. Nach Raistrick u. Mitarb.⁶⁾ ist *Notatin* noch in der Verdünnung 1:1000000000, nach Doisy u. Mitarb.^{7b)} *Penicillin B* in der Verdünnung 1:1 bis 60000000000³⁰⁾ gegenüber *Staph. aureus* wirksam. Zur Berechnung des Q_{O_2} -Werts von Reinpräparaten ist leider nur eine — auch nicht ganz eindeutige — Angabe in der zweiten Veröffentlichung Doisy's verwertbar. „Eine Lösung von Penicillin B (0,1 mg pro ccm) in 0,1proz. Glucose wurde mit O_2 durchlüftet und bei 36° im Wasserbad gehalten.“ Nach 30, 60 und 120 Min. wurden Glucose, Gluconsäure und H_2O_2 in 100 ccm Reaktionsmischung bestimmt. Glucoseverbrauch einerseits, Gluconsäure- und H_2O_2 -Bildung andererseits standen annähernd im Verhältnis 1:1:1 (was gegen nennenswerten peroxydatischen H_2O_2 -Umsatz spricht, Aus dem 30-Min.-Mittelwert berechnet sich, auf Glucose bezogen, eine monomolekulare Geschwindigkeitskonstante $k = 0,0285$ und hieraus nach Gleichung I. S. 199, ein Anfangs- Q_{O_2} von 187000 (falls tatsächlich im *G sammtansatz* nur 0,1 mg Penicillin vorhanden war). Rechnet man auf Grund der von Franke u. Lorenz¹⁹⁾ aufgenommenen AktivitätspS-Kurve die verwendete Anfangs-Substratkonzentration von m/180- auf die von uns stets verwendete von m/5- um, so wäre dieser Wert $\times 5$ zu nehmen, während er für die Umrechnung von reinem O_2 auf Luft nach der gleichen Arbeit und nach

Fig. 1 dieser Mitteilung durch 2 zu dividieren wäre, was $\frac{187000 \times 5}{2} = 470000$ ergäbe. Schließlich wäre noch zu berücksichtigen, daß die angewandte Durchlüftung

²³⁾ S. Thurlow, *Biochem. J.* **19**, 175 (1925). — D. C. Harrison u. S. Thurlow, *Biochem. J.* **20**, 217 (1926). — D. C. Harrison, *Biochem. J.* **23**, 982 (1929).

²⁴⁾ D. Keilin u. E. F. Hartree, *Proc. Roy. Soc. London (B)* **119**, 114, 141 (1936).

²⁵⁾ E. Negelein u. H. Brömel, *Biochem. Z.* **300**, 225 (1939).

²⁶⁾ H. J. Kohn, *Biochem. J.* **31**, 1693 (1937).

²⁷⁾ E. A. Zeller, *Helv. chim. Acta* **21**, 881 (1938).

²⁸⁾ J. Banga u. E. Philippot, *Hoppe-Seylers Z.* **258**, 147 (1939).

²⁹⁾ Diese Auffassung vom grundsätzlichen Wirkungsmechanismus der Glucoseoxydase gegenüber Bakterien wird weiter gestützt durch den von F. Lipmann u. C. R. Oven (*Science* **98**, 246; 1943) neuerdings geführten Nachweis, daß auch die *Xanthindehydrase* der Milch gegenüber *Staph. aureus* bakteriostatisch wirksam ist (in der Verdünnung 1:1000000, bezogen auf das reine Ferment).

³⁰⁾ Experimentell belegt sind allerdings in der Arbeit von Doisy u. Mitarb. nur wirksame Verdünnungsgrade bis maximal 1:128000000.

mit O_2 wohl die intensivste Form der Berührung mit diesem Gas darstellt und wenigstens der Schüttelgeschwindigkeit 160 T/Min. in den Versuchen der Fig. 2 (S. 203) ebenbürtig ist. Für die Umrechnung auf die Bedingungen unserer Normalversuche (S. 201) ist daher noch $470000/1,33 = 350000$ anzusetzen.

Die bakteriostatische Aktivität des Präparats ist in der amerikanischen Arbeit nicht angegeben. Beim Vergleich der enzymatischen Aktivität des obigen katalasefreien Präparats mit unseren noch mehr oder weniger stark katalasehaltigen ist noch zu bedenken, daß unsere Q_{O_2} -Werte mit einem Faktor zu multiplizieren sind, der zwischen 1 und 2 liegt (S. 219). Extrapolieren wir von unserem Präparat mit $Q_{O_2} = 3500$ und $Q_{bact} = 15000000$ (unter Verwendung des Faktors 1,5), dann würde sich für Doisy's Präparat Q_{bact} zu rund 1000000000 ergeben, ein immerhin plausibler Wert. Andererseits würde aus diesen Berechnungen folgen, daß unsere bisher besten Präparate weniger als 10 Prozent des reinen Wirkstoffs Glucoseoxydase enthalten dürften [vgl. auch ²⁾].

Frau Margarete Schöllhorn danken wir für fleißige und geschickte Mitarbeit. Der Firma Knoll A.-G., Ludwigshafen, sind wir für finanzielle Unterstützung dieser Untersuchung sehr verbunden.

Zur Autoxydation der ungesättigten Fettsäuren

V. Die Wirkung der Soja-Lipoxydase

Von Wilhelm Franke, Joseph Mönch, Dora Kibat und Annemarie Hamm

Mit 5 Figuren im Text

(Aus dem Institut für organisch-chemische Technologie und Gärungschemie der Universität Würzburg.)

[Eingelaufen am 23. Januar 1947.]

In der letzten Mitteilung dieser Reihe¹⁾ war versucht worden, auf präparativem Wege den Ort des primären O_2 -Angriffs bei der kobalt-katalysierten Autoxydation freier Linol- und Linolensäure in Substanz festzulegen. Es hatte sich dabei gezeigt, daß in der Phase annähernd quantitativer Brückenperoxydbildung zunächst die carboxylfernstes Doppelbindung angegriffen wird, während sich die Ölsäure-Doppelbindung als reaktionsträge erwies. Im Falle der Linolensäure beginnt sehr bald auch die mittlere Doppelbindung mit O_2 zu reagieren.

Es schien von Interesse, die Verhältnisse auch einmal unter den andersartigen Bedingungen (fettsaure Salze in wäßriger Lösung) der enzymatisch katalysierten Autoxydation nachzuprüfen. Eine derartige Untersuchung lag um so näher, als die in Frage kommenden Enzyme, „Lipoxydasen“ genannt, in letzter Zeit im Ausland eine ziemlich ein-

¹⁾ IV. Mitt. W. Franke u. J. Mönch, A. 556, 200 (1944).

gehende Bearbeitung gefunden haben^{2,3,4,5,6)}, ohne daß über den Chemismus der Fermentreaktion bisher mehr bekannt geworden wäre, als daß dabei primär *Peroxyde*²⁻⁶⁾ und später wahrscheinlich *Carbonylverbindungen*^{5d)} auftreten.

Bei der eigenartigen Kinetik der Enzymwirkung war es vor den präparativen Hauptversuchen erforderlich, einige orientierende Versuche über die optimalen Wirkungsbedingungen des Ferments durchzuführen. Die enzymatische Seite der Reaktion (Vorkommen, Isolierung und Reinigung, Eigenschaften und Beeinflussbarkeit des Enzyms) wird in einer folgenden Mitteilung noch eingehendere Bearbeitung finden.

Versuche.

I. Das Enzymmaterial

A. Darstellung. Nach den Literaturangaben scheinen *Sojabohnen* das meistverwendete und aktivste Ausgangsmaterial der Enzymdarstellung zu sein. Wir arbeiteten anfangs mit wäßrigen und dialysierten Extrakten eines mehrere Jahre alten käuflichen Sojabohnenmehls (präpariert, Merck); die Lösungen zeigten im später (S. 223) näher beschriebenen Aktivitätstest (mit Linolensäure als Substrat) Q_{O_2} -Werte zwischen 60 und 110. Anschließend gingen wir dazu über, frisch gekeimte Sojabohnen⁷⁾ mit Wasser zu extrahieren und die bereits sehr viel aktiveren Ausgangslösungen fraktioniert mit Ammonsulfat zu fällen; die wirksamsten, durch 65 %ige Ammonsulfatsättigung erhaltenen Enzympräparate wiesen Q_{O_2} -Werte von 6000—12000 auf⁸⁾. Ein typischer Aufarbeitungsengang verlief folgendermaßen:

Man läßt 65 g Sojabohnen (Bonn, Typ XI, schwarz glänzend) $\frac{1}{2}$ Tag in Leitungswasser quellen und anschließend 3—4 Tage in Petrischalen auf durchfeuchtem Filterpapier bei 30° keimen⁹⁾. Das gekeimte Material (Gewicht 140 g) wird von der Schale befreit, durch den Fleischwolf getrieben und 2 Stunden in der Kugelmühle

²⁾ J. B. Sumner u. Mitarb., *Enzymol.* 7, 130 (1939); *J. biol. Chem.* 134, 531 (1940).

³⁾ H. Tauber, *Am. chem. Soc.* 62, 2251 (1940).

⁴⁾ H. H. Strain, *Am. chem. Soc.* 63, 3542 (1941).

⁵⁾ H. Süllmann, *Helv.* a) 24, 465 (1941); b) 24, 646 (1941); c) 24, 1360 (1941); d) 25, 521 (1942); e) 26, 1114 (1943); f) 26, 2253 (1943); g) 27, 789 (1944).

⁶⁾ A. K. Balls, B. Axelrod u. M. W. Kies, *J. biol. Chem.* 149, 491 (1943).

⁷⁾ Herrn Prof. Dr. F. Boas, Botan. Institut der Techn. Hochschule München, und Herrn Prof. Dr. F. Overbeck, Institut f. landwirtschaftl. Botanik d. Universität Bonn, sind wir für die kostenlose Überlassung von einigen Kilogramm Sojabohnen zu großem Dank verpflichtet.

⁸⁾ In einigen Punkten hielten wir uns bei der Enzymreinigung an Angaben von Balls, Axelrod u. Kies⁶⁾. Leider geben die Autoren keine vergleichbaren quantitativen Daten über den Erfolg der Enzymanreicherung; zudem arbeiten sie nicht mit dem manometrischen Test, sondern mit kolorimetrischen Methoden (Ausbleichung einer Carotin-Äthyllinolat-Suspension bzw. Peroxyd-Bestimmung mit $FeSO_4 + NH_4CNS$ in Methylalkohol).

⁹⁾ Zur Methodik vgl. H. Kraut u. Ä. Weischer in Bamann-Myrbäck, *D. Meth. d. Fermentforsch.* 2, 1179 (Leipzig 1941).

mit dem 5fachen Vol. dest. Wasser extrahiert („Suspension“)¹⁰⁾. Es wird zentrifugiert und die milchig getrübbte Flüssigkeit über Nacht bei 3° im Gutbierschen Schnell-dialysator gegen laufendes dest. Wasser dialysiert („Rohextrakt dialysiert“). Die Lösung wird mit festem Ammonsulfat bis zu 75proz. Sättigung versetzt und der entstandene Niederschlag, der sich selbst im *Cepa*-Separator bei 45000 Umdr./Min. nicht befriedigend abzentrifugieren ließ, über Nacht im Kälteraum durch ein Faltenfilter abfiltriert. Er wird in etwa 250 ccm Wasser gelöst und wiederum über Nacht dialysiert („I. Ammonsulfatfällung [75 %] gelöst“). Aus der Lösung (ca. 500 ccm) wird durch Zugabe von Ammonsulfat bis zum Sättigungsgrad 25 % fast inaktives Material ausgefällt und nach dem Zentrifugieren durch weiteren Ammonsulfatzusatz bis zum Sättigungsgrad 65 % das gereinigte Enzym niedergeschlagen, das, erneut in 250 ccm Wasser gelöst und dialysiert wird („II. Ammonsulfatfällung [65 %] gelöst“).

Die nachfolgende Tab. 1 enthält Angaben über *Aktivität* und *Ausbeute* für die einzelnen Reinigungsstufen. Die *Aktivität* wird durch die „Atmungsgröße“ Q_{O_2} unter bestimmten Bedingungen (siehe später) ausgedrückt, das Produkt $Q_{O_2} \times \text{mg Enzym-Trockengewicht}$ ergibt die *Enzymeinheiten* (E.E.).

Tab. 1

Reinigungsstufe	Q_{O_2}	mg Tr.- gew. im ccm	ccm Lösung	E.E.	% Ausbeute
Suspension	185	40,0	1000	7400000	(100)
Rohextrakt dialysiert . . .	322	22,7	1050	7650000	103
I. Ammonsulfatfällung (75 %) gelöst	1115	12,2	500	6820000	92
II. Ammonsulfatfällung (65 %) gelöst	6000	2,5	445	6700000	90,5

Mit ganz geringen Verlusten ließ sich also durch Dialyse und wiederholte Ammonsulfatfällung eine 32fache Anreicherung der Lipoxydase erzielen.

Ein orientierender Versuch wurde auch mit frisch den Schoten entnommenen *Erbsen* durchgeführt. Der dialysierte Rohextrakt zeigte hier die Aktivität $Q_{O_2} = 29$, die dialysierte Ammonsulfatfällung (Sättigungsgrad 90 %) $Q_{O_2} = 44$.

Ferner wurde nach einem Vorschlag Süllmanns^{5f)} Soja-Rohextrakt bei 5° mit dem doppelten Vol. *Aceton* gefällt. Die Aktivität der Fällung war jedoch geringer als die des Rohextraktes.

Die bisher reinsten Lipoxydase-Lösungen sind fast klar und gelblich gefärbt. Sie lassen sich ohne Verlust i. V. bei 40–45° einengen. *Octylalkohol*zusatz hat wenig Einfluß auf die Enzymaktivität. Bei 3–5° in Gegenwart von Octylalkohol aufbewahrt, verliert das Enzym in 14 Tagen $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{4}$ seiner anfänglichen Wirksamkeit.

B. Aktivitätsbestimmung. Die Testung der Fermentpräparate erfolgte unter annähernd optimalen Bedingungen zumeist in folgendem Ansatz bei 20° (späterhin stets als „Normalansatz“ zitiert):

je 1 ccm Enzymlösung, m/10-Na-Linolenat, m/5-Phosphatpuffer p_H 6,8+2 ccm H_2O .

¹⁰⁾ Eine zweite Extraktion mit der halben Wassermenge erhöhte die Enzymausbeute um 20–30 %; es wurde zumeist auf sie verzichtet.

Die O_2 -Aufnahme in Luft wurde nach der Warburg-Methodik manometrisch bestimmt. Da die Reaktionsgeschwindigkeit aus später ausgeführten Gründen meist rasch absinkt, wurde der Aktivitätswert $Q_{O_2} = \frac{\text{cm} O_2}{\text{mg Enzym} \times \text{Std.}}$ fast durchweg aus dem 5-Minuten-Wert der O_2 -Aufnahme berechnet.

Die Eigenatmung des Enzyms und die Autoxydation der fettsauren Salze spielte nur bei schwach aktivem Enzym eine quantitativ ins Gewicht fallende Rolle und wurde dort in substrat- bzw. enzymfreien Ansätzen berücksichtigt.

Füllung des Mitteleinsatzes der Warburg-Gefäße mit KOH erübrigte sich da unter unseren Versuchsbedingungen mit und ohne KOH innerhalb der Fehlergrenzen gleiche Unterdrücke beobachtet, also keine nennenswerten CO_2 -Mengen gebildet wurden.

II. Die Reaktionskinetik

Sie wird weitgehend durch die starke, von den Reaktionsprodukten ausgeübte *Enzymschädigung* bestimmt, die bewirkt, daß die Reaktion im allgemeinen lange vor Aufnahme eines O_2 -Moleküls pro Molekül der mehrfach ungesättigten Fettsäure zum Erliegen kommt. Daß es sich hier tatsächlich um eine Erschöpfung des Ferments, nicht des Substrats, handelt, zeigt Fig. 1, wo nach dem Abklingen der Reaktion einmal die *Enzymzugabe* (I), ein andermal die *Substratzugabe* (II) wiederholt wurde.

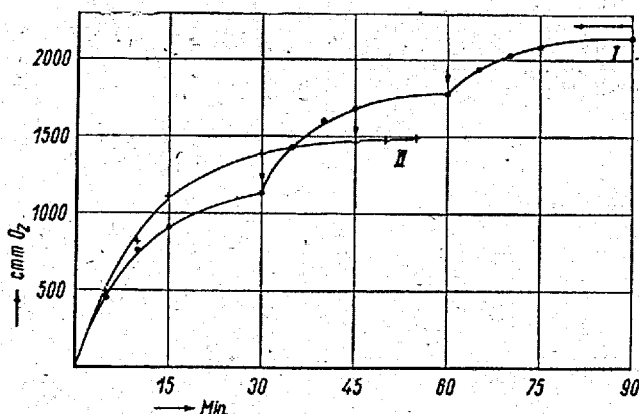


Fig. 1. Normalansätze bei 20°. Im Ansatz der Kurve I wurde nach 30 und 60 Min. (↓) erneut 1 cem Enzymlösung ($Q_{O_2} = 825$), im Ansatz der Kurve II nach 45 Min. (↓) 1 cem m/10-Na-Linolenat nachgekippt. O_2 -Äquivalent einer Doppelbindung 2240 cm O_2 (— · — · —).

A. Temperatureinfluß. Mit steigender Temperatur nimmt die Fermentschädigung stark zu, so daß die bei längerer Versuchsdauer erreichten O_2 -Aufnahmen im 20°-Versuch erheblich höher liegen als im 37°-Versuch (Fig. 2). Die Anfangsgeschwindigkeiten sind dagegen innerhalb der Versuchsfehler fast gleich.

B. Der Einfluß der Enzymkonzentration geht aus Fig. 3 hervor. Nur im Bereiche der kleinsten Enzymzusätze besteht an-

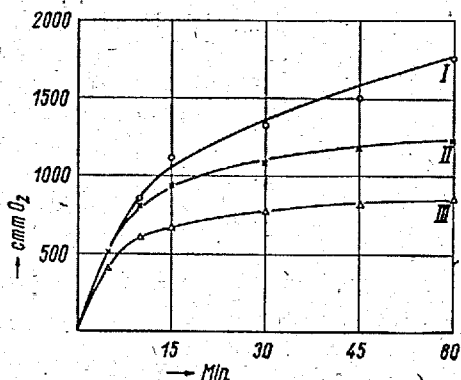


Fig. 2. Normalansätze bei 20° (I), 30° (II) und 37° (III). Enzymaktivität $Q_{O_2} = 175$.

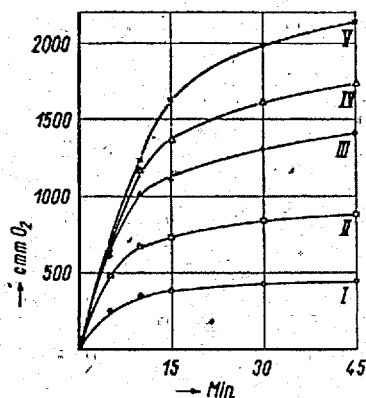


Fig. 3. Dem Normalansatz analoge Linolenat-ansätze bei 20° mit 0,1 ccm (I), 0,25 ccm (II), 0,5 ccm (III), 1,0 ccm (IV) und 1,5 ccm (V) Enzymlösung. Q_{O_2} ber. aus I = 12300. O_2 -Äquiv. einer Doppelbindung 2240 cmm.

nähernde Proportionalität zwischen Anfangsgeschwindigkeit und Enzymkonzentration, bei größeren Enzymmengen wird eine wohl physikalisch (durch die O_2 -Diffusion) bedingte Grenzggeschwindigkeit der O_2 -Aufnahme erreicht. Andererseits liegt bei höheren Fermentkonzentrationen der schließlich erreichte Wert der O_2 -Aufnahme höher als bei niedrigeren, da im ersteren Fall die stets vorhandene Fermentschädigung weniger stark ins Gewicht fällt.

C. Über den Einfluß der Substratkonzentration unterrichtet Fig. 4 am Beispiel der Linolsäure. Maximale Anfangsgeschwindigkeit ist bei einer Linolsäure-Konzentration von m/100 erreicht; sie bleibt (sicher wieder aus physikalischen Gründen) bei weiterer Steigerung der

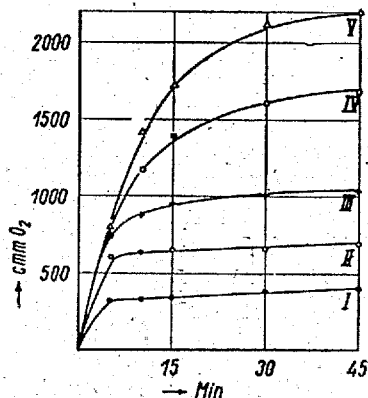


Fig. 4. Dem Normalansatz analoge Linolat-Ansätze bei 20° mit 0,1 ccm (I), 0,25 ccm (II), 0,5 ccm (III), 1,0 ccm (IV) und 1,5 ccm (V) m/10-Substratlösung. Q_{O_2} des Enzyms = 3200.

Substratkonzentration aufs Dreifache unverändert. Die Endabsorptionen an O_2 nehmen bei Erhöhung der Linolsäure-Konzentration ums 15fache nur ums $5\frac{1}{2}$ fache zu, worin wieder die verstärkte Schädigung der gleichen Enzymmenge durch erhöhte Peroxydkonzentrationen zum Ausdruck kommen dürfte.

D. Der Einfluß des O_2 -Partialdrucks ist gering, wie aus den in Tab. 2 zusammengestellten Parallelreihen mit Luft und reinem O_2 hervorgeht. Die Anfangsgeschwindigkeiten sind innerhalb der Fehlergrenzen fast gleich, das spätere Abklingen der Reaktion erfolgt in O_2 etwas langsamer als in Luft.

Tab. 2

Normalansätze mit wechselnden Enzymmengen in reinem O_2 und in Luft.
cem O_2 .

Zeit (Min.) \ Enzymlösung cem	Reiner O_2				Luft			
	0,25	0,50	0,75	1,0	0,25	0,50	0,75	1,0
5	26	140	326	371	24	190	351	310
10	36	200	457	511	40	260	465	444
15	46	225	535	608	44	297	522	502
30	67	277	670	766	56	338	612	598
45	77	304	729	832	68	354	642	643

E. Der p_H -Einfluß wurde in größerem Bereich unter Verwendung des von T. Teorell und E. Stenhagen^{10a)} angegebenen *Universalpuffers* und im physiologisch besonders wichtigen Gebiet zwischen p_H 5,3 und 8,3 nochmals unter Verwendung von *Phosphatpuffer* untersucht.

Die im übrigen dem Normalansatz nachgebildeten Ansätze enthielten entweder 2 cem Universalpuffer der unten angegebenen Zusammensetzung oder 3 cem m/5-Phosphatpuffer. Bei längerer Versuchsdauer zeigt der p_H -Wert der Ansätze sinkende Tendenz. Während der Abfall im größten Teil des untersuchten p_H -Bereichs nur wenige Zehntel ausmacht, steigt er im Gebiet $> p_H$ 10 auf eine p_H -Einheit und darüber an. Der Fig. 5 sind Mittelwerte zwischen Anfangs- und End- p_H zugrundegelegt.

^{10a)} Biochem. Z. 299, 416 (1938). Wir verdünnten die Pufferstammlösung zur Erhöhung der Pufferkapazität nur auf 25 (statt wie angegeben 100) cem, so daß sich folgende Molaritäten der einzelnen Bestandteile in den gebrauchsfertigen Pufferlösungen ergaben: H_3PO_4 0,04, H_2BO_3 0,046, Citronensäure 0,027. Die p_H -Einstellung erfolgte dabei mit n/1-HCl.

Fig. 5. p_H -Reihen.
 I (*) O_2 -Aufnahmen nach 5 Min.
 Universalpuffer.
 Ia (o) O_2 -Aufnahmen nach 45 Min.
 Universalpuffer.
 II (+) O_2 -Aufnahmen nach 5 Min.
 Phosphatpuffer.
 Q_{O_2} des Enzyms (im Normalansatz)
 = 1160.

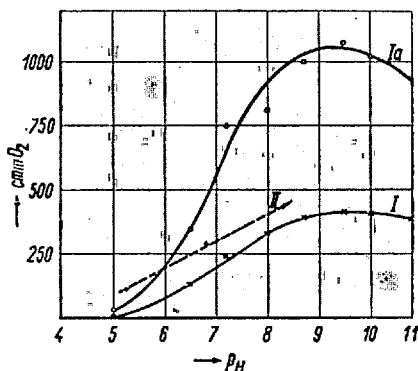


Fig. 5 zeigt die für ein pflanzliches Ferment überraschende Tatsache, daß das Wirkungsoptimum im *alkalischen* Gebiet (bei etwa p_H 9,5) liegt, während bei p_H 5 die Wirkung im Universalpuffer praktisch vollständig, in Phosphatpuffer zum größten Teil verschwunden ist. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß bei p_H 5 das Enzym offenbar zum Teil ausgefällt ist. Phosphat- und Universalpuffer-Kurve laufen einander übrigens annähernd parallel. Der Befund, daß die Reaktion im alkalischen Gebiet nicht nur mit größerer Anfangsgeschwindigkeit verläuft, sondern auch zu überproportional gesteigerten Endabsorptionen führt, bedarf hinsichtlich seiner Ursachen noch näherer Untersuchung^{10b)}.

III. Zum Chemismus der Enzymreaktion

A. Peroxydbestimmungen. Daß bei der Wirkung der Lipoxydase primär *Peroxyde* gebildet werden, wird in den S. 222 zitierten Arbeiten wiederholt angegeben; nur in zwei Fällen^{2,6)} ist jedoch — zudem mit mangelhaften Methoden — der Versuch gemacht worden, das Ausmaß der Peroxydbildung quantitativ zu bestimmen. Versuche, O_2 -Aufnahme und Peroxydbildung in quantitative Beziehung zueinander zu setzen, fehlen bisher vollständig. Sie wurden daher nach dem in der III. Mitt. dieser Reihe¹¹⁾ erprobten und für den vorliegenden Fall

^{10b)} Nach Abschluß der Untersuchung wurden uns in diesem Zusammenhang interessierende pflanzenphysiologische Beobachtungen D. S. van Fleets (Am. chem. Soc. 65, 710 [1943]) bekannt. „Wurzel- und Stengelgewebe von 6 Arten von Getreidepflanzen, die in gepufferten Nährlösungen bei p_H 7,2–7,6 gewachsen waren, hatten hohe Oxydaseaktivität in Fettgeweben im Keimlingsstadium, doch war nach Ablauf von 5 Wochen der Vorrat an ungesättigtem Fett sehr niedrig und die Fettgewebe waren durch niedrigere Oxydaseaktivität und die Anwesenheit von Fettabbauprodukten charakterisiert. Die umgekehrten Verhältnisse wurden erhalten im Falle von Pflanzen, die in gepufferten Lösungen bei p_H 4,8–5,6 gewachsen waren. In relativ sauren Medien gewachsene Pflanzen zeigten eine höhere Fettanhäufung und eine niedrigere Oxydaseaktivität.“

¹¹⁾ W. Franke u. D. Jerchel, A. 533, 46 (1937).

wäßriger Seifenlösungen nur etwas zu modifizierenden Verfahren durchgeführt.

Zu diesem Zweck wurden 10—15 bei 20° parallel laufende Normalansätze nach Erreichung bestimmter O₂-Aufnahmen (20—25% der für Peroxydierung aller Doppelbindungen errechneten) vereinigt, mit 20 ccm 2n-H₂SO₄ angesäuert und dreimal mit je 40 ccm Äther ausgeschüttelt. Die auf der Zentrifuge abgetrennten Ätherschichten wurden nach Vereinigung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und i. V. eingedunstet, die gewogenen Rückstände mit 5 ccm eines Gemisches von 0,75 ccm konz. wäßr. HJ (d = 1,96), 1,75 ccm Eisessig und 2,5 ccm CCl₄ versetzt und eine Stunde unter CO₂ stehen gelassen; nach Zugabe von 20 ccm Wasser wurde das ausgeschiedene Jod mit n/10-Na₂S₂O₃ titriert. Kontrollversuche mit vollständigen, aber nicht autoxydierten Ansätzen liefen zur Bestimmung der abzuziehenden Leerausscheidung an Jod mit.

Die Genauigkeit der Bestimmungen leidet durch die Bildung hartnäckiger voluminöser Eiweißsuspensionen beim Ansäuern und Ausäthern, durch Verluste beim Trocknen und bei der weiteren Aufarbeitung, so daß nur 80—90% des eingesetzten Substrats wiedergewonnen werden.

In Tab. 3 ist das Ergebnis zweier derartiger Peroxydbestimmungen wiedergegeben.

Tab. 3

	Linolsäure	Linolensäure
mMol Substrat	1,5	1,0
mMol O ₂ -Aufnahme	0,73	0,61
% O ₂ bezogen auf alle Doppelbindgg.	24,3	20,3
% Substrat wiedergewonnen	87	80
Peroxyd gef. (in ccm n/10)	16,6*)	13,0**)
„ ber. aus O ₂ -Aufnahme	12,6	9,8
% Peroxyd d. Th.	132	133

*) nach Abzug des Leerwerts 2,9 ccm.

**) nach Abzug des Leerwerts 2,34 ccm.

Die erhaltenen Peroxydausbeuten liegen mit merkwürdiger Übereinstimmung sogar über 100%, obwohl ein Testversuch an dem zur Prüfung der Methode geeigneten *Di-oxyheptylperoxyd*¹²⁾ nur 92% ergeben hatte. Die Ursache der zu hohen Peroxydwerte soll noch eingehender geprüft werden, im vorliegenden Zusammenhang genügt jedoch der Nachweis einer praktisch quantitativen Peroxydbildung bei mäßigen Autoxydationsgraden, ähnlich wie bei der rein *chemisch* katalysierten Autoxydation der ungesättigten Fettsäuren¹¹⁾.

B. Jodzählbestimmungen. Um zu entscheiden, ob es sich bei den enzymatisch gebildeten Peroxyden um sekundäre (Brücken-) oder primäre Peroxyde (HC·O·OH) handelt, wurden an Autoxydationsprodukten einige Jodzahlen nach der Kaufmannschen Methode¹³⁾ bestimmt.

¹²⁾ R. S. Morrell u. E. O. Phillips, J. Soc. Chem. Ind. 58, 159 (1939).

¹³⁾ H. P. Kaufmann, Studien auf d. Fettgebiet (Berlin 1935).

Die Aufarbeitung der enzymatischen Ansätze entsprach im wesentlichen der vorausgehend unter A. beschriebenen, mit dem Unterschied, daß der Ätherrückstand schließlich in 20 ccm Chloroform gelöst und mit dem Überschuß der methylalkoholischen Bromlösung versetzt wurde. Leerversuche mit nicht autoxydierter Fettsäure + Enzym wurden auch hier ausgeführt.

Das Resultat zweier Jodzahlabnahmen enthält Tab. 4.

Tab. 4

	Linolsäure		Linolensäure	
mMol Substrat	0,8	0,8	0,6	0,6
mMol O ₂ -Aufnahme	0,34	—	0,38	—
% O ₂ bezogen auf alle Doppelbindg.	21,25	—	21,0	—
% Substrat wiedergewonnen	99,7	99,7	83,1	86,2
ccm n/10-Br. verbraucht	25,9	30,8	22,6	28,5
Jodzahl	145	176,5	205	249
% Jodzahlabnahme	17,3	—	16,2	—
% Jodzahlabnahme				
$\frac{\% \text{ O}_2\text{-Aufnahme}}{\% \text{ Jodzahlabnahme}} \times 100$	81	—	77	—

Der Verlust von Doppelbindungen bleibt hier zwar — abweichend von der strikten Proportionalität zur O₂-Aufnahme bei der nichtenzymatischen Autoxydation^{1,11)} — um $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{5}$ hinter dem für ein *Brückenperoxyd* zu erwartenden zurück, doch muß die Bedeutung dieser Differenz erst noch durch weitere Versuche geklärt werden.

Grundsätzlich ist dazu zu bemerken, daß sich die Jodzahlabnahme bei geringen Autoxydationsgraden als Differenz zweier nicht sehr erheblich verschiedener Titrationswerte ergibt, in die jeweils noch die oben schon erwähnten Ungenauigkeiten des Aufarbeitungsverfahrens eingehen.

C. Hydrierung und Aufspaltung der Reaktionsprodukte mit Bleitetraacetat. Das angewandte Verfahren entsprach dem in der IV. Mitt. eingehend beschriebenen. Maßgebend war die Überlegung, daß ein Brückenperoxyd bei der katalytischen Hydrierung in ein Glykol und dieses bei der Oxydation nach Criegee in Aldehyd + Aldehydsäure übergehen sollte. Der wasserdampfflüchtige Aldehyd war als 2,4-Dinitrophenylhydrazon leicht zu fassen und mußte Auskunft über den Ort des primären O₂-Angriffs geben.

Die präparativen Ansätze entsprachen ungefähr dem 400fachen eines Normalansatzes, was den Einsatz von rund 10 g Linol- bzw. Linolensäure bedingte. Die Ansätze hatten folgende Zusammensetzung:

275 ccm Enzymlösung (QO₂ ca. 10000)
 360 ccm m/10-Na-Linol(en)at
 400 ccm m/5-Phosphatpuffer pH 6,8
 965 ccm H₂O.

In Anbetracht der nachgewiesenen Enzymschädigung durch die Reaktionsprodukte wurde nur die Hälfte der Enzymlösung sofort zugesetzt, die andere Hälfte während des Versuchs zutropft. Die Versuche wurden bei 21–22° in einer auf der Schüttelmaschine befindlichen 10-l-Flasche durchgeführt, die mit zwei Tropf-

trichtern (zur Enzym- und zur Substrat-Zugabe) versehen war und mit einem über Wasser abgeschlossenen Luftvolumen in Verbindung stand. Der O_2 -Verbrauch konnte am Steigen des Wasserniveaus im Meßzylinder direkt abgelesen werden. Nach Erreichung einer geeigneten O_2 -Aufnahme — 20—25 % der zur Peroxydierung aller Doppelbindungen erforderlichen Menge — wurde die Reaktion durch Zugabe von 100 ccm 2n- H_2SO_4 abgestoppt, die Reaktionslösung, aus der hierbei Fettsäure + Eiweiß ausgefallen waren, mehrmals mit Äther (insgesamt etwa 500 ccm) ausgeschüttelt, der Ätherextrakt i. V. eingedunstet und der Rückstand im Gesamtvolumen von 150 ccm Äther + 50 ccm Alkohol bei Gegenwart von 500 mg PtO_2 katalytisch hydriert.

Tab. 5 enthält quantitative Angaben über den Gang von Autoxydation und Hydrierung.

Tab. 5

	Linolsäure	Linolensäure
g Substrat	10,1	10,0
mMol Substrat	36,0	36,0
ccm O_2	405	512
mMol O_2	18,1	22,9
Autoxydationsgrad in %	25,2	21,2
ccm H_2	1613	2080
mMol H_2	72,1	92,8
Hydrierwert in %*)	100	86
g Hydrierungsprodukt	9,2	7,9
% d. Th.	86	72

*) 100% entsprechen der H_2 -Kapazität des Ausgangsmaterials.

Wie ersichtlich, ist die Aufarbeitung auch hier nicht quantitativ. Da der Hauptverlust an Substanz wohl beim Ausäthern der eiweißhaltigen Reaktionslösungen (vgl. S. 228) erfolgt, liegen die Hydrierwerte vermutlich um etwa 15 % über der Theorie; es muß also evtl. mit einer „Überreduktion“ primär gebildeten Glykols gerechnet werden.

Von den erhaltenen Hydrierungsprodukten wurden nach dem früher¹⁾ angegebenen Verfahren *Säure-* und *Hydroxyl-Zahlen* (SZ und OHZ) bestimmt. In Tab. 6 sind die gefundenen Absolut- und Prozentwerte beider Kennzahlen zusammengestellt.

Die theoretische SZ errechnet sich aus der SZ des Ausgangsmaterials unter Berücksichtigung der durch die O_2 -Aufnahme bedingten Erhöhung des Molekulargewichts, die theoretische OHZ ist durch die Annahme, daß jede Peroxydgruppe bei der Reduktion 2 OH-Gruppen liefert, bestimmt.

Tab. 6

	Hydriertes Autoxydat der	
	Linolsäure	Linolensäure
SZ gef.	187,5	190
„ ber.	187	184,4
„ in % d. Th.	100	103
OHZ gef.	78	105
„ ber.	187	232
„ in % d. Th.	42	44

Während die Säurezahlen innerhalb der Fehlergrenzen der Theorie entsprechen, erreichen die OH-Zahlen kaum die Hälfte des theoretischen Werts. Dieses Ergebnis liegt auf der Linie des bei der nichtenzymatischen Reaktion gewonnenen, wo die OH-Zahlen der Hydrierungsprodukte im Durchschnitt 60 % der Theorie erreichten. Eine stichhaltige Erklärung des OH-Defizits kann zur Zeit noch nicht gegeben werden. [Vgl. die Diskussion in der vorausgehenden Mitt.¹⁾]

Vor der präparativen Durchführung der Bleitetraacetat-spaltung wurde der zu erwartende Verbrauch an Oxydationsmittel zunächst durch Titration der Hydrierungsprodukte mit $n/10\text{-PbAc}_4$ in Eisessig ermittelt¹⁾. Der Berechnung des prozentischen Umsatzes in Tab. 7 ist die Annahme quantitativer Peroxyd- bzw. Glykolbildung zugrundegelegt.

Tab. 7

	Hydriertes Autoxydat der	
	Linolsäure	Linolensäure
mg Substrat	281,6	240,9
Ursprüngl. Peroxydgeh. in mmol (theor.)	0,469	0,502
OH-Gehalt in mÄqv. (theor.)	0,938	1,004
$n/10\text{-PbAc}_4$ vorgelegt	10,03	10,03
$n/10\text{-PbAc}_4$ verbraucht	1,50	1,04
Verbrauch in % d. Th.	16	10,4

Der nachgewiesene PbAc_4 -Verbrauch ist also sehr gering, erheblich kleiner noch als im Falle der chemisch katalysierten Autoxydation, wo er bei ähnlichen Autoxydationsgraden in der Nähe von 30 % d. Th. lag. Nur etwa $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{4}$ der nach Tab. 6 nachweisbaren OH-Gruppen liegt demnach in α -Glykolform vor.

Bei den präparativen Spaltungsversuchen, in denen jeweils etwa 7 g der hydrierten Autoxydationsprodukte eingesetzt wurden, kam die $1\frac{1}{2}$ -fache Menge des in den beiden Vorversuchen festgestellten PbAc_4 -Verbrauchs zur Anwendung. Das Ergebnis der beiden an Linol- und Linolensäure durchgeführten Aufarbeitungen (nach der Methode der IV. Mitt.) ist in Tab. 8 verzeichnet.

Qualitativ ergibt sich aus Tab. 8, daß sowohl bei Linol- wie bei Linolensäure die enzymatische Reaktion zuerst an $\Delta 12,13$ einsetzt. Für den Fall der Linolsäure deckt sich dieses Ergebnis mit dem der nichtenzymatischen Oxydation¹⁾; dagegen wurde seinerzeit bei Linolensäure ein bevorzugter Angriff der $15,16$ -Doppelbindung festgestellt, der sich allerdings $\Delta 12,13$ sehr bald anschloß. Die Ölsäure-Doppelbindung ($\Delta 9,10$) erwies sich jedenfalls bisher stets als reaktionsträge. Es wird nachzuprüfen sein, ob die $12,13$ -Doppelbindung auch im isolierten Zustand reaktionsfähiger ist als die Doppelbindung der Ölsäure¹⁴⁾.

¹⁴⁾ Orientierende nichtenzymatische Autoxydationsversuche an $\Delta 12,13$ -Octadecensäure scheinen in diese Richtung zu weisen.

Tab. 8

	Linolsäure	Linolensäure
g Substrat	7,5	6,5
Autoxydationsgrad in %	25,2	21,2
Hydrierwert in %	>100 <116	>86 <119
g Roh-Hydrazon*), (Schmp.)	0,134 (um 80°)	0,148 (um 60°)
g Hydrazon, ger., gelb (Schmp.)	0,022 (102-103°)	0,014 (93-96°)
Hydrazon-Ausbeute (Capronaldehyd) in %, bezogen auf		
a) hydriertes Autoxydat**).	3,8	3,9
b) dessen proz. OH-Zahl	9,1	8,9

Der Schmp. des Capronaldehyd-dinitrophenylhydrazons liegt bei 104°.

Die Analysen der in den beiden Versuchen erhaltenen gelben Hydrazone ergaben:

C 51,23	50,76	Ber. C 51,42	
H 5,73	5,55	H 5,74	C ₁₂ H ₁₀ O ₄ N ₄
N 20,04	20,61	N 19,99	

*) Mit Hydrazon ist hier und im folgenden stets das 2,4-Dinitrophenylhydrazon gemeint.

**) Unter der Voraussetzung, daß nur eine Doppelbindung autoxydativ angegriffen wurde und pro angegriffene Doppelbindung ein Mol Aldehyd entsteht.

Im einzelnen ist zu den Versuchen noch zu bemerken: Die mit Wasserdampf übergehenden Aldehyde wurden jeweils in 2 Fraktionen aufgefangen. Die Hydrazonfällung der zweiten Fraktion enthielt in beiden Fällen viel öliges Material. Zum Umkristallisieren der Rohhydrazone kamen nacheinander Benzol + Benzin, Amylalkohol + Essigester sowie zweimal Alkohol zur Anwendung.

In quantitativer Beziehung fallen auch bei der enzymatisch katalysierten Autoxydation wieder die sehr schlechten Aldehydausbeuten bei der PbAc₂-Spaltung auf. Die gefundenen Aldehydmengen entsprechen kaum 4 % des aufgenommenen Sauerstoffs, nur 9 % des in den hydrierten Autoxydationsprodukten enthaltenen Hydroxyls. Es bestätigt sich damit wieder die schon in der IV. Mitt. ausgesprochene Auffassung, daß die α -Glykolgruppierung in den genannten Produkten nur eine untergeordnete Rolle spielen kann. Trotz der sehr stark abweichenden Reaktionsbedingungen bei der chemisch und der enzymatisch katalysierten Autoxydation scheint der Reaktionsmechanismus in beiden Fällen weitgehend übereinzustimmen. Die Aufklärung der sich an die primäre Brückenperoxydbildung, die bisher allein hinsichtlich des Ausmaßes und Ortes im Molekül als experimentell sichergestellt betrachtet werden kann, anschließenden Folgereaktionen wird der Inhalt weiterer Mitteilungen sein.

Dem Reichsforschungsrat (Beauftragten für Fettforschung) danken wir für die finanzielle Förderung unserer Untersuchungen.

Berichtigungen

Bd. 557, S. 175, Anm.²⁾ ist zu streichen.

Bd. 557, S. 186, Z. 4 von oben: statt 210° lies 310°.

Bd. 557, S. 189, Z. 13 von unten muß heißen: alkali-löslich.

Bd. 557, S. 190, Z. 7 von unten lies: γ -Stellung.

Bd. 557, S. 190, Z. 12 von unten lies: 6-Stellung.

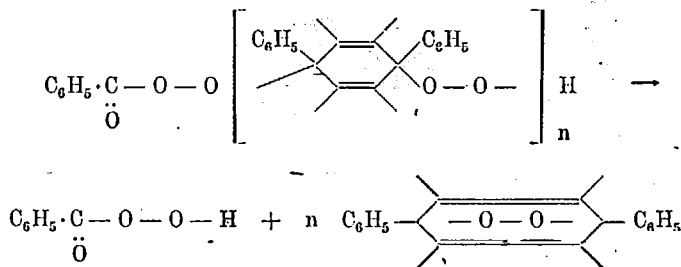
Bd. 557, S. 190, Z. 9 von unten

Bd. 557, S. 190, Z. 16 von oben

Bd. 557, S. 192, Z. 3, 9, 10 von unten

Rhodoporphyrin- γ -carbonsäure statt
Rhodoporphyrin

Bd. 558, S. 210: Die untenstehende Formelreihe ist zu ersetzen durch



Band 558 S. 233, Zeile 7 ist der Ausdruck „rechtsdrehendes“ zu streichen.

(Abgeschlossen am 8. Mai 1948)

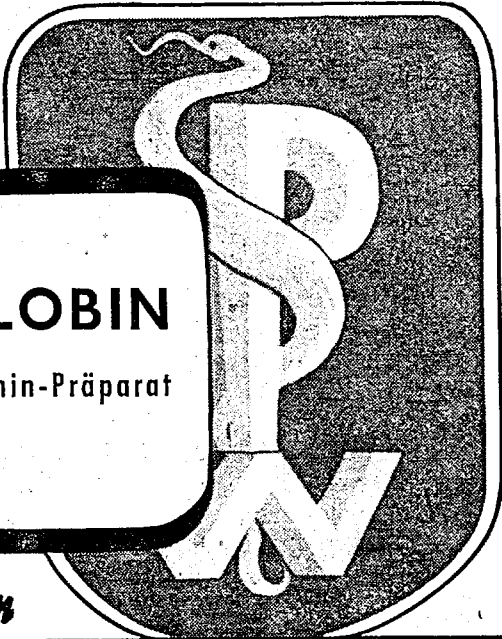
Nachdrucke von Zeitschriften

Es ist beabsichtigt, von den Kriegsjahrgängen der in Deutschland erschienenen chemischen Zeitschriften NACHDRUCKE herzustellen, um die entstandenen Lücken zu füllen.

Zur Feststellung des Bedarfs an diesen Nachdrucken bitten wir alle Interessenten, ihre Wünsche bis zum 1. Oktober 1948 der unterzeichneten Kekulé-Bibliothek unverbindlich anzugeben.

Die Kekulé-Bibliothek übernimmt hiermit lediglich die Vermittlung zwischen den Verlegern und den Interessenten, ohne jedoch für später eine Lieferungszusage geben zu können.

Kekulé-Bibliothek, Farbenfabriken Bayer, (22c) Leverkusen-Bayerwerk



CALCIOGLOBIN

Kalk- Eiweiß- Vitamin-Präparat

Philopharm

CHEM.- PHARM. FABRIK QUEDLINBURG

ROHRLEITUNGEN

HÄHN E, APPARATE
GEFÄSSE BIS 300 LITER INHALT
aus säurebeständigem Steinzeug

FRANZ GERHARDT
STEINZEUGFABRIK
SCHÖNEBECK/Elbe, Friedrichstr. 54—57

Emulgiermaschine

„ZENITH“

D. R. P. u. Auslandspat.

3 Typen von ca. 30 bis
600 Lit. Stundenleistung
zur Herstellung von Sei-
fen, Salben, Linimenten,
Aromen und Weich-
krem sowie Lebertran-
u. Lack-Emulsionen usw.

*Einfache Handhabung
Hohe Qualität*

Wilhelm Steinhorst

Leipzig N 22

Ehrensteinstr. 49

Neuer

pH-Tüpfelapparat

nach Prof. Dr. Tödt / Dr. Gollnow

Meßbereich 1—14 pH
Universalindikator 2—10 pH
mit 3 neuen Farbtafeln



Neue pH-Farbtafel

zur Prüfung der Bodenreaktion
und des Kalkbedarfs

Dr. G. Gollnow, Bln.-Charlotten-
burg 5, Hebbelstr. 20, sowie Bad
Segeberg/Holst. (24b), Kirchstr. 22

Soeben ist erschienen:

**GENERAL-REGISTER ZU
JUSTUS LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE**

Bände 501—550

Bearbeitet von Elisabeth Dane und Marlise
Dane † 81 Seiten geheftet RM 12.-

VERLAG CHEMIE G.m.b.H., (17a) Weinheim/Bergstr. und (1) Berlin-Friedenau

Asthma bronchiale

Zanedo

Pulver
Inhalationsmittel
Tabletten
Tropfen

Graef
ENTW. GRAEF

ARZNEIMITTELFABRIK

MÜNCHEN

BERLIN

HAMBURG

FRANKFURT a/M



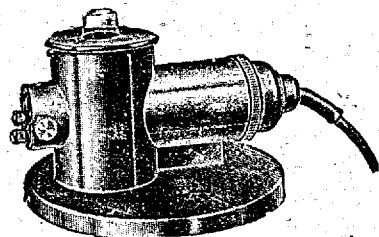
LORRACH/BADEN

ZUSCHRIFTEN AN DIE WISSENSCHAFTLICHE ABTEILUNG

BERLIN-SCHÖNEBERG, GENESTR. 5

FISCHER

Lichtelektrisches Becherglas- Kolorimeter



mit Reagenzglas-Einsatz
kurzfristig lieferbar

ebenso Photoelemente, Luxmeter und Ultra-Relais

DR. B. LANGE



Spezialfabrik lichtelektrischer Zellen und Apparate · Berlin-Zehlendorf, Hermannstr. 14-18 · Tel. 848122

Säureschutzbau

seit 35 Jahren!

Wir bauen

Behälterauskleidungen jeder Art

Spezialität:

Säurefeste Fußböden, Wandbeläge
in bewährter Qualität und Ausführung

Liefern

Normalsteine, Normalplatten,
Formplatten, Spezial-Säurekitt,
Sekurit-Säurelack, Sekuritkitt

Kostenlose Beratung

Auf Wunsch Ingenieurbesuch

Friedrich Rößler

Fabrik säurefester Produkte
Bensheim/Bergstraße

Angebote von
Bibliotheken

Zeitschriften und Büchern
über

**CHEMIE, PHYSIK u.
GRENZGEBIETE**
sind stets erwünscht

Besonders gesucht werden:

Gmelins Handbuch der anorga-
nischen Chemie, 7. und 8. Auflage

Beilsteins Handbuch der orga-
nischen Chemie, 3. und 4. Auflage

Hauptwerk und Ergänzungswerke
Ullmanns Enzyklopaedie der
techn. Chemie, 1. und 2. Auflage

Auch einzelne Bände

VERLAG CHEMIE, GmbH.

Weinheim/Bergstr. u. Berlin-Friedenau
Hauptstr. 127 Kaiserallee 89

Es ist erschienen

OTTO HAHN

Künstliche neue Elemente

Vom Unwägbaren zum Wägbaren
(mit einer Einführung in die Geschichte der Kernspaltung)

Zu beziehen durch alle Buchhandlungen oder notfalls,
möglichst unter Einsendung von Packmaterial, vom

VERLAG CHEMIE, GMBH.

Weinheim/Bergstr. u. Berlin-Friedenau, Kaiserallee 89

52 Seiten

Preis RM. 2.50

Säureschutzbau

HOTTELET & CO. K.G.

BERLIN-ZEHLENDORF · MÖLLERPFAD 5 · FERNRUF 76 04 29

R E A G E N Z I E N

FEINCHEMIKALIEN

*für Industrie und Forschung
Wissenschaftliche Präparate*

in anerkannter Reinheit liefert, wenn auch
zur Zeit noch in beschränktem Umfang

Dr. Theodor Schuchardt G.m.b.H.

C h e m i s c h e F a b r i k
Zweigniederlassung Eisenach

Telefon: 1515

Telegramm-Adresse:
Schuchardt Eisenach

(15) EISENACH (THÜRINGEN)
(RUSSISCHE ZONE) Gaswerkstraße 30

ES ERSCHEINT WIEDER:

„Gewerblicher Rechtsschutz und Urheberrecht“

Herausgeber: Rechtsanwalt Dr. Eduard Reimer

Die Gebiete der Zeitschrift sind: Patent- und Gebrauchsmusterrecht, Wettbewerbs- und Warenzeichenrecht, Urheber- und Verlagsrecht. Durch Aufsätze, Mitteilungen der Gesetzgebung des In- und Auslandes, Wiedergabe von Entscheidungen wird fortlaufend über alles Wesentliche berichtet werden. Eine vordringliche Aufgabe der Zeitschrift ist es, zur Wiederherstellung und Festigung der Rechtsordnung und des Rechtsschutzes auf dem Gebiet des gewerblichen und geistigen Eigentums beizutragen. Insbesondere bedürfen augenblicklich die Fragen der Behandlung, die sich aus der Stilllegung des Patentamtes und der dadurch bedingten Unmöglichkeit, Schutz für neue Erfindungen und Warenzeichen zu erlangen, ergeben haben.

Die Zeitschrift erscheint zweimonatlich im Umfange von etwa 48 Seiten. Halbjahresbezugspreis RM 25.— zuzüglich Versandkosten — Die Hefte 1 und 2 liegen bereits vor.

VERLAG CHEMIE, G. m. b. H.,

Weinheim/Bergstr., Hauptstraße 127 und Berlin-Friedenau, Kaiserallee 89



Chemische Fabrik gegr. 1896 **Dr. Reininghaus**

Chemikalien und Präparate für
Untersuchungslaboratorien und
wissenschaftliche Zwecke

A p o l d a, Postfach 46. — Telefon 1147.

CHEMIKALIEN

für Pharmazie und Technik

REAGENZIEN

in höchster Reinheit

FIXANAL-SUBSTANZEN

für die Maßanalyse

RIEDEL-DE HAËN A.-G. • SEELZE bei HANNOVER

Vom Wasser

Ein Jahrbuch für Wasserchemie und Wasserreinigungstechnik

HERAUSGEGEBEN VON DR.-ING. WILHELM HUSMANN

XVI. Band 1943/1944 — 330 Seiten mit 47 Zahlentafeln und 93 Abbildungen

Von diesem Bande ist eine kleine Anzahl gut erhaltener
antiquarischer Exemplare verfügbar. Preis des broschierten
Werkes RM 14.— zuzüglich Porto und Versandkosten

Bestellungen werden erbeten an:

VERLAG CHEMIE, G.m.b.H., Abt. Antiquariat, Berlin-Friedenau, Kaiserallee 89